

SÒNIA DARBRA I MARGES

**ALTERACIONS DE L'EIX TIROÏDAL:
EFECTES CONDUCTUALS I MORFOLÒGICS
EN LA RATA WISTAR**

Tèsi Doctoral dirigida per

Dra. M. Assumpció Martí Carbonell

Departament de Psicologia de la Salut
Facultat de Psicologia
Universitat Autònoma de Barcelona
1994



En memòria de la meva avia

Als meus pares, germans i avia

Aquest treball és fruit de moltes il·lusions, és per aixó que vull agrair molt profundament a totes aquelles persones que, compartint amb mi les seves il·lusions, han fet possible que s'hagi fet realitat.

I donar les gràcies a tots aquells que han cregut amb mi, i no han dubtat mai que, al final, el somni es faria realitat.

A la Dra. Martí-Carbonell, al Dr. Ferran Balada i a la Dra Adriana Garau, els quals han dedicat moltes hores de treball en aquest estudi, però sobretot m'han dedicat moltes hores de la seva vida. I per la maravillosa virtut de la paciència de la qual tots tres en gaudeixen. De tot cor, gràcies.

Al Prudenci Gatell,
qui ha compartit moltes hores amb mi al laboratori i algunes coses no haguessin estat possible si ell no hi hagués estat.

A la Josefina Sala,
de qui sempre he rebut ajut i ànims.

A la Dra. Nuria Ferré,
qui sempre m'ha escoltat, aconsellat i ensenyat receptes de la vida quotidiana.

Al Dr. Marc Pallarés, la Dra. Roser Nadal i la Gemma Prat,
dels quals, a part d'ajut, he rebut sempre una bona amistat.

A la Dra. Gemma Guillazo,
membre imprescindible del tàndem SG Inc.

Al José Gago,
que, encara que no ho vol reconèixer, és el pare de les criatures.

A les rates,
per fer possible aquest treball.

A la Dra. Dolors Riba i a la Dra. Carme Viladrich,
per fer fàcil lo difícil i ajudar-me en tot moment.

Al Dr. Xavier Navarro, al Dr. Miquel Butí i al Dr. Enrique Verdú,
dels quals sempre he rebut ajut i col·laboració.

Al Dr. Antonio Armario i al Dr. Octavi Martí,
per deixar-me emportar el seu laboratori al nostre laboratori.

Al José P. Andrade,
del qui he rebut consells i suport. Gràcies per confiar amb mi.

A la Maria Bermudez,
qui ha corregit el català.

A la Marta Floriach,
qui ha realitzat el dibuix.

I de manera molt especial

Al Prof. Antonio Ruiz-Marcos i al Dr. José Antonio Muñoz-Cueto,
els quals hem van ensenyar la tècnica de tinció en talls de Golgi i hem van
obrir les portes al camp de la morfologia neuronal. Gràcies per ajudar a la "trepitja
fotos" que venia de Barcelona.

A la "màfia" d' U-Bus,
qui ha estat amb mi amb tot moment i ha aguantat valentment l'escomesa.

A la Eva, i tots els amics de "birra",
els quals han aguantat estoïcament davant de la cervesa i sempre m'han
animat.

Aquest treball ha estat possible gràcies a:

C.I.R.I.T. Joves investigadors convocatòria 1990.

Dos ajut de la Direcció General d'Universitats de la Generalitat de Catalunya. Convocatòries 1990 i 1993,

Un ajut de la DGICYT (*****), i

Una beca de Formació de Personal Investigador de la Generalitat de Catalunya.

INTRODUCCIO	15
PART TEORICA	
1 LES HORMONES TIROÏDALS	19
1.1 La tiroïde	19
1.2 La biosíntesi de les hormones tiroïdals	20
1.3 Els mecanismes de control de l'eix hipotàlem - hipofiso tiroïdal	20
1.4 Metabolització de les hormones tiroïdals	23
1.5 L'acció biològica de les hormones tiroïdals	25
2. LA CONDUCTA I HORMONES TIROÏDALS	27
2.1 Els efectes de les hormones tiroïdals en el desenvolupament	31
2.1.1 Els efectes de la manca d'hormones tiroïdals	33
2.1.2 Els efectes de l'excés d'hormones tiroïdals	40
2.1 3 Les hormones tiroïdals i l'aparició dels reflexes	43
2.2 Les hormones tiroïdals i rehabilitació	44
2.3 Els efectes de les hormones tiroïdals en l'edat adulta	46
3. L'HIPOCAMP	48
3.1 Citoarquitectura de l'hipocamp	49
3.2 Les connexions intrínseques de la formació hipocampal	52
3.3 Les connexions extrínseques de la formació hipocampal	60
4. TEORIES PSICOLÒGIQUES DE LA FUNCIO HIPOCAMPAL	63
4.1 Teories que impliquen mecanismes d'atenció	65
4.2 Teories que impliquen mecanismes d'inhibició de la resposta	68
4.3 Teories que impliquen la memòria	69
4.4 Quina és la funció de la formació hipocampal ?	72
5. LES ESPINES DENDRÍTIQUES	79

5.1 Les funcions de les espines dendrítiques	82
5.2 La densitat de les espines dendrítiques	84
5.3 La plasticitat de les espines dendrítiques	85
5.3.1 La plasticitat induïda experimentalment	87
5.3.1.1 Privació	88
5.3.1.2 Estimulació	91
5.3.2 La plasticitat en condicions patològiques	92
6. LA FORMACIÓ HIPOCAMPAL I HORMONES TIROÏDALS : ALTERACIONS	
MORFOLÒGIQUES INDUÏDES PER LES HORMONES TIROÏDALS ...	94
6.1 La formació hipocampal i hormones tiroïdals en el desenvolupament ..	94
6.1.1 Alteracions morfològiques de les neurones	
piramidals hipocàmiques	95
6.2 La formació hipocampal i les hormones tiroïdals en el cervell adult	97
6.2.1 Alteracions morfològiques de les neurones	
piramidals hipocàmiques	98
7. HIPOTESIS DE TREBALL	99
PART EXPERIMENTAL	
1. PROCEDIMENT	109
1.1 Subjectes	109
1.2 Tractaments	109
1.2.1 Alteracions de l'eix tiroïdal realitzades	109
1.2.2 Inducció química del distiroïdisme	112
1.2.3 Administració dels tractaments: via oral	113
1.2.4 Obtenció de les diferents sol·lucions	113
1.3 Avaluació Psicomotriu	115

1.4	Avaluació conductual	116
1.4.1	Prova llum-fosca	116
1.4.2	Aprenentatge : Evitació passiva	117
1.4.3	Prova de Boissier	118
1.4.4	Prova del laberint elevat	118
1.4.5	Prova del Camp Obert	119
1.4.6	Prova de la interacció social	119
5.	Extracció mostres sanguinies i avaluació endocrina	120
6.	Histologia i anàlisi morfomètrica	121
6.1.	Mètode de Golgi ràpid en talls	121
6.2.	Anàlisi morfomètrica	122
7.	Anàlisi estadística	125
2.	RESULTATS	127
2.1	Inducció al distiroïdisme	127
2.1.1	Efectes del tractament en període perinatal en la rata de 21 dies	127
2.1.2	Efectes del tractament en edat adulta en els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta	129
2.1.3	Efectes del tractament en període perinatal en la rata adulta	131
2.1.4	Efectes de la interacció entre els dos període de tractament sobre els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta	133
2.2	Avaluació psicomotriu	135
2.3	Avaluació Conductual	135
2.3.1	Efectes del tractament perinatal en la conducta individual de la rata adulta	136
2.3.2	Efectes del tractament perinatal en la prova de la interacció social	

1.4	Avaluació conductual	116
1.4.1	Prova llum-fosca	116
1.4.2	Aprenentatge : Evitació passiva	117
1.4.3	Prova de Boissier	118
1.4.4	Prova del laberint elevat	118
1.4.5	Prova del Camp Obert	119
1.4.6	Prova de la interacció social	119
5.	Extracció mostres sanguinies i avaluació endocrina	120
6.	Histologia i anàlisi morfològica	121
6.1.	Mètode de Golgi ràpid en talls	121
6.2.	Anàlisi morfològica	122
7.	Anàlisi estadística	125
2.	RESULTATS	127
2.1	Inducció al distiroïdisme	127
2.1.1	Efectes del tractament en període perinatal en la rata de 21 dies	127
2.1.2	Efectes del tractament en edat adulta en els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta	129
2.1.3	Efectes del tractament en període perinatal en la rata adulta	131
2.1.4	Efectes de la interacció entre els dos període de tractament sobre els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta	133
2.2	Avaluació psicomotriu	135
2.3	Avaluació Conductual	135
2.3.1	Efectes del tractament perinatal en la conducta individual de la rata adulta	136
2.3.2	Efectes del tractament perinatal en la prova de la interacció social de la	

de la rata adulta	138
2.3.3 Efectes del tractament en edat adulta en la conducta individual de la rata	139
2.3.4 Efectes del tractament en edat adulta en la prova de la interacció social	141
2.3.5 Efectes de la interacció dels dos períodes de tractament en la conducta individual de la rata	143
2.3.6 Efectes de la interacció dels dos períodes de tractament en la prova de la interacció social de la rata	148
2.4 Avaluació morfològica	151
2.4.1 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmpica de la rata de 21 dies	151
2.4.2 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmpica de la rata de 90 dies	163
2.4.3 Efectes del tractament en edat adulta sobre la morfologia hipocàmpica	166
2.4.4 Efectes de la interacció dels dos períodes de tractament sobre la morfologia hipocàmpica de la rata adulta	170
3. DISCUSSIÓ	171
3.1 Inducció al distiroïdisme	171
3.1.1 Efectes del tractament en període perinatal en la rata de 21 dies	171
3.1.2 Efectes del tractament en edat adulta en els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta	172
3.1.3 Efectes del tractament en període perinatal en la rata adulta:	

recuperació espontània de l'eix tiroïdal	173
3.1.4 Efectes de la interacció entre els dos període de tractament sobre els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta	174
3.2 Avaluació psicomotriu	176
3.3 Avaluació conductual	177
3.3.1 Alteracions perinatals i conducta individual en la rata adulta	177
3.3.2 Alteracions en l'edat adulta i conducta	182
3.3.3 Efecte de la interacció dels dos períodes de tractament i conducta individual	185
3.3.4 Efecte de la interacció dels dos períodes de tractament i prova de interacció social	186
3.4 Avaluació morfològica	188
3.4.1 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmpica de la rata de 21 dies	188
3.4.2 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmpica de la rata de 90 dies	190
3.4.3 Efectes del tractament en edat adulta sobre la morfologia hipocàmpica	192
3.4.4 Efectes de la interacció dels dos períodes de tractament sobre la morfologia hipocàmpica de la rata adulta	194
4. CONCLUSIONS	195
5. BIBLIOGRAFIA	199

Com deu ser això que tenim entre orella i orella que em permet riure, moure'm, pensar, dir allò que penso, emocionar-me,..., ser el que jo sóc? Aquesta és la pregunta que m'ha voltat pel cap des de ben petita.

Com funciona el cervell? Com es modula en funció de l'experiència? Com un conjunt de cèl·lules pot fer que jo sigui com sóc? Són altres preguntes que m'han apassionat al llarg dels anys.

No pretenc respondre a cap d'aquestes qüestions, seria tenir molt poc respecte per la "màquina que ens governa", però sí que puc dir que són aquests interrogants els que han guiat la meva curiositat i han motivat la meva recerca en el camp de les neurociències i, més concretament, dins del de la psicobiologia.

INTRODUCCIÓ

La conducta, fruit del funcionament del sistema nerviós, o com Carlson assenyala "la funció última del sistema nerviós", neix de la interacció entre factors biològics, experiencials i ambientals. L'origen de tota conducta l'hem de buscar en la incidència dels sistemes neuroquímic, endocrí i immunològic sobre una estructura modelable, com és el sistema nerviós, regulada pels *inputs* situacionals i experiencials. El sistema nerviós es pot modificar o, si es vol, adaptar als canvis pel fet que manifesta el que s'anomena **plasticitat neural**. Gràcies a aquesta propietat, tot organisme viu pot ser vist com un sistema obert en constant interacció amb el seu medi extern, de manera que les alteracions que es donin en el "medi ambient" tindran una incidència sobre el "substrat biològic" que es veurà reflectida en la conducta; d'altra banda, les alteracions en el "substrat biològic" incidiran en la percepció de l'"ambient" i, com a conseqüència, la conducta també en quedarà afectada. Així doncs, ens trobem amb un sistema nerviós "no estàtic" que, en interacció amb altres factors -ja siguin ambientals, situacionals, socials o bioquímics-, esdevé diferent perquè és plàstic. Per altra part, no podem oblidar que existeix una altra font de variabilitat que anomenem **diferències individuals**, és a dir, aquelles diferències que es donen entre els individus d'una mateixa espècie i que, en definitiva, fan que siguem diferents uns dels altres, les quals fonamentalment venen marcades per diferències constitucionals.

Aquestes característiques pròpies de cada individu centren l'interès d'aquest treball que s'emmarca dins del camp de les bases biològiques de les diferències individuals. Tot ésser respon a un patró biològic, que hereta i modula en interacció amb l'ambient, que li configura un tarannà distintiu. Aquesta manera de ser i fer, de veure i sentir, de percebre i respondre, és la que dóna sentit i caracteritza la conducta d'aquest ésser.

PART TEÒRICA

1. LES HORMONES TIROÏDALS

1.1 LA TIROIDE

L'eix hipotàlamo-hipofiso-tiroïdal té com a òrgan perifèric la glàndula tiroïdal. Aquesta glàndula té un seguit de característiques distintives de la resta de glàndules endocrines:

- És l'únic teixit capaç d'acumular iode en grans quantitats i d'incorporar-lo a les hormones (cal recordar que les hormones tiroïdals són aminoàcids iodinitzats).

- Presenta una estructura bàsica que també és única entre les glàndules endocrines, ja que està formada per fol·licles de diverses mides (20-250 micres), essent aquests la unitat funcional de la glàndula, que contenen col·loide produït per les cèl·lules fol·liculars.

- És el més gran dels òrgans endocrins que funciona exclusivament com una glàndula endocrina.

Aquesta estructura fol·licular que presenta la tiroide està molt relacionada amb la característica que la distingeix: la seva dependència funcional d'un oligoelement molt escàs, com és el iode, per a la síntesi de les seves hormones. Això comporta la necessitat de poder concentrar el iode i emmagatzemar l'hormona iodada, de tal manera que no sigui immediatament accessible al torrent sanguini i poder regular la seva alliberació i secreció com a hormona activa segons les necessitats de l'organisme. Cal assenyalar que la glàndula tiroïdal dels mamífers està composta per dues poblacions cel·lulars diferents implicades en la síntesi de dos tipus d'hormones diferents:

Les cèl·lules fol·liculars: són unes cèl·lules cuboïdals-columnars, amb una polaritat de secreció directa cap a la llum del fol·licle, que sintetitzen iodotironines metabòlicament

actives.

Les cèl·lules parafol·liculars o "C-cells": implicades en la síntesi de la **calcitonina**, una hormona que influeix en els nivells sanguinis de calci i fòsfor, i en el metabolisme de les cèl·lules òssies.

1.2 LA BIOSÍNTESI DE LES HORMONES TIROÏDALS :

La biosíntesi de les hormones tiroïdals també és característica i única entre les glàndules endocrines, ja que l'unió final de les hormones ocorre **extracel·lularment**, en la llum fol·licular.

Podem distingir diferents passos en el procés de síntesi d'aquestes hormones, com són la captació i la preparació dels elements essencials, la síntesi de la tiroglobulina i la formació de iodotironines. Tant la síntesi de les hormones tiroïdals com l'alliberació de les formes hormonals actives es poden veure reflectides en la figura 1.

1.3 ELS MECANISMES DE CONTROL DE L'EIX HIPOTÀLAMO-HIPOFISO-TIROÏDAL:

El punt clau de control del sistema tiroïdal és la cèl·lula pituïtària tirotròfica. Aquestes cèl·lules de l'adenohipòfisi sintetitzen l'**hormona estimulant de la tiroide** o tirotropina (TSH). Aquesta hormona és una glicoproteïna que presenta una estructura quaternària composta per dos subunitats: la subunitat

Fig 1. Esquema de la síntesi i l'alliberació de les hormones tiroïdals que duen a terme les cèl·lules fol·liculars de la tiroïde.

alfa, comú a totes les hormones glicoproteïques, i la subunitat beta que li dóna l'especificitat biològica.

Un dels factors més importants de modulació de l'alliberació de la TSH és l'hormona **estimulant de l'alliberament de la tirotropina (TRH; pèptid segregat per les cèl·lules hipotalàmiques que tenen els seus cossos en els nuclis para i periventriculars)**, ja que s'ha observat que existeix una relació directa entre la TRH i la TSH. Aquesta acció es portaria a terme gràcies a l'existència de receptors amb una elevada afinitat per la TRH en l'àmbit de la hipòfisi, de tal manera que el *binding* (lligament) de la TRH al seu receptor incrementa les concentracions de l'ió calci lliure intracel·lular, ja sigui perquè mobilitza els *pools* (dipòsits) intracel·lulars, o bé perquè incrementa el transport de calci per la via dels canals de la membrana, i aquest increment de calci citoplasmàtic activa l'alliberació de la TSH (Gershengorn, 1986) (vegeu la fig. XX).

Sembla ser que l'AMP_c podria estar-hi implicat, ja que tant la TRH com l'AMP_c incrementen l'afluència de calci dins de la cèl·lula tirotròfica i mobilitzen el calci dels *pools* intracel·lulars. Malgrat tot, no sembla ser que l'AMP_c sigui el primer mediador de l'efecte de la TRH, sinó que l'estimulació del metabolisme dels fosfoinositols de membrana, amb la producció d'inositol trifosfat i diacilglicerol, com a segons missatgers, hi podria estar implicat (Gershengorn, 1986).

El segon factor de control de la secreció de la TSH són les hormones tiroïdals, i concretament la T₃. El *binding* de la T₃ al seu receptor nuclear en la cèl·lula tirotròfica inhibeix la producció de ARN_m, tant de la cadena alfa com de la cadena beta de la TSH, així com també disminueix el *binding* del receptor de la TRH (Gershengorn, 1986). Per tant, es

pot afirmar que les hormones tiroïdals juguen un doble paper: per una banda, poden inhibir la producció de la TSH, inhibint la transcripció gènica, i, per altra banda, inhibeixen l'efecte de la TRH sobre el seu receptor. La T_3 intrapituïtària deriva de la T_4 per monodeiodinització local i també del sèrum.

Altres factors implicats en el control de l'alliberació de la TSH són les substàncies peptídiques, com la neurotensina i la colecistoquinina, que l'inhibeixen. També s'ha descrit un efecte inhibitori de la somatostatina. Les encefalines i altres opioïdes que l'estimularien. Sembla ser que aquesta estimulació opioïde no seria un efecte directe, sinó que seria a través de les vies dopaminèrgiques, inhibint aquestes vies, ja que la dopamina també inhibeix la secreció de la TSH. Per altra part, s'ha observat un efecte dual adrenèrgic en l'àmbit hipotalàmic: els efectes per la via dels receptors alfa 2 produïrien una estimulació, i els mediats pels receptors alfa 1 provocarien una inhibició de la secreció. En l'àmbit hipofisari, aquests receptors alfa 1 mediarien un efecte contrari, ja que la seva activació provoca una estimulació de la secreció de la TSH.

1.4 LA METABOLITZACIÓ DE LES HORMONES TIROÏDALS:

Les hormones tiroïdals presents en la circulació provenen tant de la secreció de la tiroide com de la metabolització de la T_4 en els teixits perifèrics. La tetraiodotironina deriva exclusivament de la síntesi i la secreció de la glàndula tiroïdal. En canvi, les triiodotironines (T_3 i rT_3) es produeixen en gran quantitat en els teixits perifèrics per la via de la deiodinització de la T_4 . Només una petita quantitat de T_3 i rT_3 (entre un 10 i un 20 % i menys d'un 5 %, respectivament, del total de la T_3 circulant) en un animal eutiroid adult, sota ingesta normal de iode, és secretada per la glàndula tiroïdal (Fisher i Polk, 1989).

Malgrat que les hormones tiroïdals pateixin un seguit de transformacions bioquímiques, la via de la metabolització més important d'aquestes hormones és la anomenada monodeiodinització seqüencial. El primer pas de la deiodinització de la tiroxina és l'eliminació d'un àtom de iode, ja sigui de l'anell extern (anell beta o hidroxil) per formar T_3 o bé de l'anell intern (anell alfa o tirsil) per formar rT_3 (vegeu la fig. 2).

Fig 2. Pas inicial de monodeiodinització seqüencial que pateixen les hormones tiroïdals.

La T_3 és la iodotironina biològicament més activa, que té tres o quatre vegades la potència metabòlica de la T_4 ; la rT_3 té una afinitat molt baixa pel receptor nuclear tiroïdal

i és essencialment inactiva. Subseqüents monodeiodinacions seqüencials degraden les triiodotironines a didiodotironines (T_2) fins a moniodotironines, i finalment obtenim l'esquelet de la tironina no iodinitzat.

S'han descrit dos tipus de 5' monodeiodinases (5'MDI) per l'anell beta: la 5'MDI Tipus I, que s'expressa preferentment en el fetge i el ronyó (provablement també es troba en el múscle) i és la responsable de la majoria de la deiodinització perifèrica de la T_4 , així com també deiodinitza la rT_3 a T_2 ; la 5'MDI Tipus II, que la trobem present en el cervell i en la hipòfisi, així com en el teixit adipós bru, i actua principalment augmentant els nivells intracel·lulars de la T_3 , és per aixó que probablement juga un paper important en el proveïment de la T_3 intracel·lular a aquells teixits que durant la vida fetal són dependents de la triiodotironina (com la hipòfisi i el cervell).

També s'ha observat que l'enzim implicat en la deiodinització de l'anell tirosil o alfa, la 5'MDI Tipus III, és present en el fetge fetal, el cervell, la pell i la placenta. Aquest sistema enzimàtic catalitza la conversió de la T_4 a rT_3 i el pas de la T_3 a 3,3'-diiodotironina.

1.5 L'ACCIÓ BIOLÒGICA DE LES HORMONES TIROÏDALS:

La varietat de les accions de les hormones tiroïdals ha estat ben caracteritzada en espècies com la rata, així com la diversitat d'aquests efectes en l'ontogènesi de l'individu. Les iodotironines estan implicades en múltiples processos tals com la termogènesi tissular, l'activitat d'enzims hepàtics, el *binding* dels receptors beta-adrenèrgics, l'augment de pes corporal, el creixement muscular, la maduració esquelètica, la maduració de la pell (incloent l'obertura d'ulls i l'erupció dental) i la maduració del cervell. L'estatus tiroïdal influeix en

les concentracions en sèrum i en la hipòfisi de l'hormona del creixement, en les concentracions del factor de creixement nerviós submandibular i del factor de creixement epidermal. Alguns d'aquests efectes representen l'acció de les hormones tiroïdals sobre el control de la transcripció gènica d'alguns productes gènics específics mediat per la via dels receptors d'hormones tiroïdals. Aquestes accions inclouen els efectes sobre els enzims hepàtics, la síntesi de l'hormona de creixement pituïtària,... . Altres accions de les hormones tiroïdals impliquen un seguit de fenòmens complexos, els mecanismes dels quals encara no estan massa clarificats. Aquestes accions serien l'estimulació del creixement, la maduració esquelètica i la maduració del cervell.

Els mecanismes d'acció subcel·lulars de les hormones tiroïdals semblen assemblar-se al de les hormones esteroïdals en el fet que les hormones entren lliurement en les cèl·lules diana i es lliguen a proteïnes *binding* citosòliques.

Les triiodotironines lliures o bé es lliguen als receptors de la membrana mitocondrial per activar el metabolisme energètic mitocondrial o es lliguen als receptors nuclears incrementant la transcripció del missatge gènica per facilitar la síntesi de noves proteïnes. Els efectes de les hormones tiroïdals, en conjunt, són:

- Incrementar la mitjana del metabolisme basal.
- Fer que hi hagi més glucosa disponible per atendre les demandes del metabolisme que s'ha augmentat, per via de l'increment de la glucòlisi, la gluconeogènesi i l'absorció de glucosa de l'intestí.
- Estimulació de la síntesi de noves proteïnes.
- Incrementar el metabolisme dels lípids i la conversió del colesterol a àcids biliars i altres substàncies, activació de la lipoproteïna lipasa, increment de la sensibilitat del teixit

adipós a la lipolisi per altres hormones.

- Incrementar la freqüència cardíaca i el corrent sanguini.

- Incrementar la transmissió neural, la cerebració i el desenvolupament neuronal en els animals joves.

2. LA CONDUCTA I LES HORMONES TIROÏDALS

La implicació del sistema neuroendocrí en el desenvolupament i el funcionament del Sistema Nerviós és un fet reconegut. Tanmateix, les hormones són un dels factors més estudiats i coneguts d'entre els que s'anomenen agents epigenètics, els quals provoquen la variabilitat i contribueixen a explicar les diferències individuals. Els efectes que les hormones tenen sobre el sistema nerviós han estat classificats, tradicionalment, atenent el moment en què ocorren en els efectes organitzacionals, quan es donen en períodes de màxim creixement i diferenciació cel·lular, i en els efectes activacionals, quan es donen en l'organisme ja desenvolupat. Tradicionalment es pensava que els efectes organitzacionals eren permanents i irreversibles ja que implicaven canvis estructurals, mentre que els activacionals suposaven regulacions dels circuits neurals establerts en l'edat adulta mitjançant petites variacions en la neuroquímica de la sinapsi que no implicaven canvis en la morfologia neuronal (Arnold i Gorski, 1984). En els últims anys han anat apareixent estudis que han posat de manifest que el cervell de l'animal adult pot respondre a diferents manipulacions, entre les quals destaquen les manipulacions hormonals, amb canvis estructurals importants. És per això que sovint organitzacional és sinònim de permanent, mentre que activacional és sinònim de temporal

(Gould et al., 1991), sense oblidar que tant els efectes activacionals com els organitzacionals poden comportar alteracions estructurals en les neurones.

Nosaltres acceptem aquesta terminologia, però creiem que cal distingir en la vida de tot organisme tres grans períodes: el desenvolupament, la maduresa i l'envelliment. Aquests períodes probablement reflecteixen tres nivells de funcionament de l'organisme, així com també responen a diferents graus de plasticitat neuronal, per tant, cal tenir present a l'hora d'estudiar els possibles efectes de les hormones en quin moment del cicle vital de l'organisme estan actuant els factors epigenètics. En el benentès que aquests efectes de les hormones sobre el sistema nerviós, tant els activacionals com els organitzacionals, i en darrer terme sobre la conducta, no tenen perquè ser els mateixos ni anar en el mateix sentit, ja que, a causa dels processos maduratius, el substrat sobre el que estan actuant no és el mateix i, per tant, la interacció serà de caire diferent.

Pel que fa a l'estudi dels efectes de les hormones tiroïdals sobre el sistema nerviós, durant molts segles s'anà constatant l'alta freqüència de retard mental, defectes auditius i trastorns neurològics en els habitants de zones amb un sever goll endèmic, que va donar lloc al terme de "cretinisme". Després del descobriment del iode per part de Courtois, l'any 1811, es començà a sospitar que era la manca d'aquest la causa del goll endèmic i del cretinisme. Més tard, a final del segle XIX, es va establir la relació entre l'hipotiroïdisme (endocrinopatia del goll endèmic) i el cretinisme, gràcies a les descripcions de casos de retard mental en nens que vivien en àrees no afectades pel goll endèmic i a la descripció de dos casos de cretinisme en nens que en l'autòpsia no presentaven la glàndula tiroïdal. Curiosament, els primers intents de profilaxi del iode es van realitzar fins i tot abans que Baumann, l'any 1895, descobrís que el iode es trobava contingut en la glàndula tiroïdal.

Així doncs, fa molts anys que es reconeix el paper de les hormones tiroïdals en la regulació de la maduració del sistema nerviós. Però, malgrat tot, la relació causal entre la deficiència d'hormones tiroïdals durant el període fetal i neonatal i els danys irreversibles sobre el cervell, causants del "cretinisme", no va ésser acceptada fins a la segona meitat d'aquest segle, quan es van obtenir experimentalment les primeres rates "cretines" (Eayrs, 1961). En els darrers anys, estudis realitzats amb animals experimentals han anat posant de manifest que la manca d'hormones tiroïdals durant períodes crítics del desenvolupament deteriora la maduració morfològica, bioquímica i funcional del sistema nerviós.

Les principals hormones de l'eix tiroïdal, la tiroxina (T_4) i la triiodotironina (T_3), actuen sobre el desenvolupament del sistema nerviós i en la maduració gràcies a la presència de receptors específics per a la T_3 en el nucli cel·lular (Oppenheimer, 1979). Aquesta dada ens indica que l'acció de les hormones tiroïdals s'inicia, a escala molecular, en el centre neuràlgic de la cèl·lula i que els seus efectes es traduiran en canvis importants, tant en la fisiologia de la pròpia cèl·lula com en el funcionament del sistema nerviós. Malgrat tot, durant anys els investigadors es qüestionaven la relació entre el receptor específic de la triiodotironina i el mecanisme d'acció de les hormones tiroïdals sobre el sistema nerviós i, molt més concretament, sobre el sistema nerviós central. Una de les dades més intrigant (i conflictiva) és que tot i que sembla ser que el nombre de receptors es manté constant al llarg de la vida de l'animal, les hormones tiroïdals actuen sobre un gran nombre de processos del cervell quan s'està desenvolupant, mentre que, sorprenentment, en el cervell adult les accions són molt més restringides. Aquestes diferències van portar a considerar si les hormones tiroïdals actuaven directament sobre les cèl·lules neurals (neurones i cèl·lules glials) o indirectament a través d'accions metabòliques generals. Per altra part, també es començà a

considerar el potencial del teixit neural per a la rehabilitació dels efectes de la deficiència tiroïdal, així com el seu abast i regulació.

Els treballs realitzats amb cultius cel·lulars han fet possible demostrar que les hormones tiroïdals actuen directament sobre el teixit neural i no indirectament a través de processos metabòlics. A més, sembla ser que les cèl·lules gials presenten una afinitat més alta per la T_3 que les neurones, tant en l'estat eutiroides (nivells normals de T_3 i T_4) com en l'hipotiroïdisme (nivells baixos o absents de T_3 i T_4).

La rehabilitació de l'hipotiroïdisme es realitza mitjançant una teràpia hormonal de substitució (reposició) i la rehabilitació del hipertiroïdisme s'aconsegueix reduint els nivells elevats d'hormones tiroïdals a rangs normals mitjançant l'administració de goitrògens. Clàssicament, s'ha cregut que la rehabilitació només és possible quan s'inicia durant el període crític definit, és a dir, un període d'accelerat creixement i alta susceptibilitat a l'acció hormonal. En el cas de l'hipotiroïdisme humà, s'aconsella iniciar la intervenció durant el primer mes de vida del nadó. Però uns treballs realitzats més recentment amb rates han posat de manifest que és possible obtenir una rehabilitació considerable fins i tot quan la teràpia s'inicia després del primer mes postnatal (edat comparable a un any de l'infant) (Tamasy et al, 1986a: 1986b).

El coneixement cada cop més acurat dels mecanismes d'acció de les hormones tiroïdals sobre el substrat biològic, i, més concretament, sobre el sistema nerviós, així com els avenços propis en el camp de les neurociències, ha fet que s'anés modificant el concepte del rol d'aquestes hormones sobre la funcionalitat del sistema nerviós, de tal manera que, sense ser massa agosarats, es podria parlar d'una evolució dels coneixements des dels primers treballs de Eyars i Shapiro fins als més recents de Tamasy i Timiras. Aquesta evolució serà

tractada en el següents apartats.

2.1 ELS EFECTES DE LES HORMONES TIROÏDALS EN EL DESENVOLUPAMENT

Les observacions realitzades des de la clínica, com ja s'ha dit, van ésser les que van despertar l'interès dels efectes de les hormones tiroïdals sobre el desenvolupament del sistema nerviós. Aquesta pot ésser una de les raons del perquè els treballs bàsicament se centren en la manca d'hormones tiroïdals. Per altra banda, s'ha assenyalat que l'hipertiroïdisme és menys comú i molt més difícil de reproduir en animals, té conseqüències sobre el cervell menys severes però els efectes sobre el metabolisme perifèric (per exemple, la tirotoxicosi) poden posar en perill la supervivència de l'animal (Timiras i Nzekwe, 1989). Els efectes de les hormones tiroïdals sobre el desenvolupament i la maduració del sistema nerviós han estat àmpliament estudiats en els seus vessants bioquímic, estructural i morfològic.

Els primers estudis realitzats s'encaminaren a esbrinar els efectes de les hormones tiroïdals sobre la morfologia cerebral. D'entre ells destaquen, i actualment es consideren treballs pioners, els realitzats per Eayrs en l'escorça de rata i els realitzats per Legrand en el cervellet. Aquests treballs posen de manifest que les conseqüències més dramàtiques de l'hipotiroïdisme durant el desenvolupament cerebral es donen en el neuropil. L'exemple clàssic d'aquest neuropil hipoplàstic és el de les cèl·lules de Purkinje del cervellet, en les quals les dendrites i els axons estan significativament reduïdes tant en nombre com en longitud en rates fetes hipotiroïdes en néixer (Timiras, 1988).

Aquestes alteracions morfològiques i, en concret, les que impliquen la morfologia neuronal, fan que en el cas de l'hipotiroïdisme es doni un menor contacte interneuronal que s'atribueix a un retard en la sinaptogènesi, a alteracions en la composició de la membrana

sinàptica i a les interaccions proteïno-lipídiques. Alhora, aquests canvis morfològics es veuen reflectits en alteracions en els sistemes de neurotransmissió.

Les investigacions dutes a terme en el tema de l'efecte de les hormones tiroïdals sobre la conducta, des dels treballs primerencs d'Eayrs, a mitjan de segle, fins a principi dels anys 80, giren a l'entorn de dos eixos: un gruix considerable de treballs posa l'accent en l'aparició de diferents respostes reflexes, mentre que l'altre nucli de treball el trobem en l'estudi de l'efecte de les hormones tiroïdals sobre diferents aprenentatges. Aquestes dues línies de treball, si bé poden

semblar distants, tenen en comú que se centren en els aspectes maduratius dels mecanismes subjacents a la conducta. Així, l'estudi dels reflexos i, en concret, de la seva aparició, és una mesura directa de l'evolució madurativa del sistema nerviós. Per altra part, els treballs realitzats centrats en l'aprenentatge posen també l'èmfasi en els aspectes maduratius i d'adquisició dels diferents aprenentatges. Malgrat tot, el fet de centrar l'estudi en l'aprenentatge ha vingut donat per la simptomatologia del hipotiroïdisme, no oblidem que cursa amb un greu retard mental.

Les conclusions que s'extreuen dels primers treballs suggereixen que les hormones tiroïdals tenen un paper modulador sobre els processos maduratius, de tal manera que s'observa un retard en el desenvolupament a causa del dèficit d'hormones tiroïdals, mentre que es parla d'una maduració més primerenca o accelerada en aquells animals que en període perinatal han rebut aquestes hormones en excés. En línies generals es parla d'una modificació dels períodes de maduració del sistema nerviós que es tradueix en alteracions conductuals en l'organisme madur.

2.1.1 Els efectes de la manca d'hormones tiroïdals

Els primers estudis pioners realitzats per l'equip d'Eyars, ja posen l'èmfasi sobre les alteracions en la maduració dels reflexos innats i en l'adquisició de tasques com l'aprenentatge de laberints en les rates tiroïdectomitzades quirúrgicament en néixer (Eyars & Lishman, 1955; Eyars, 1966). Aquest deteriorament en la capacitat d'aprenentatge es va associar amb les deficiències en el neuropil i amb la reducció conseqüent de la probabilitat d'interacció entre les neurones (Eyars, 1968).

L'any 1968, Essman, Mendoza i Hamburguen publiquen un treball amb el propòsit d'avaluar i determinar la permanència del retard en l'adquisició d'una resposta sensòriomotriu simple en les rates i els ratolins hipotiroïdes, ja que segons els autors encara quedava per resoldre si el retard conductual en l'hipotiroïdisme és degut a un taxa de desenvolupament alentida, o bé és degut a un dèficit permanent provocat per un dany neural irreversible. En aquest estudi es posa de manifest que la manca de les hormones tiroïdals durant el principi de la vida postnatal provoca més efectes a llarg termini que els implicats en l'adquisició d'un simple laberint. Per aquests autors, el rol de les hormones tiroïdals no estaria massa clar perquè tant podrien disparar (*trigger*) els components del sistema nerviós cap a l'acció, o bé la seva influència es donaria en un estadi final en la interacció d'aquest sistema (Essman et al., 1968).

Un altre grup de treball, dirigit per J.W. Davenport, va centrar la seva atenció en estudiar els efectes de l'hipotiroïdisme sobre l'aprenentatge. Aquests autors van realitzar experiments amb diferents dosis de goitrògens, amb diferents períodes d'administració, així com també van emprar diversos tipus d'aprenentatge. Els resultats dels seus primers estudis assenyalen que hi ha un dèficit dosi-dependent en l'aprenentatge d'un laberint en aquelles

rates adultes que han rebut un tractament amb goitrògens en els períodes pre i postnatal, mentre que aquelles rates que només han rebut el fàrmac antitiroïdal en el període prenatal no mostren dèficits en l'aprenentatge del laberint en cap de les dosis utilitzades (Davenport i Dorcey, 1972). En aquest treball també es posa de manifest que les rates que mostren dèficits en l'aprenentatge de laberints executen correctament altres tasques d'aprenentatge.

Des dels estudis de Eayrs, s'havia establert que, per provocar dèficits en l'aprenentatge en la rata, la tiroïdectomia (química o quirúrgica) s'havia de realitzar a partir del naixement, però abans de les dues setmanes de vida. És per això que el grup de Davenport conclou el seu treball dient que el deteriorament conductual observat era degut al component postnatal del període d'exposició al goitrogen (Davenport i Dorcey, 1972).

Arran d'aquests resultats (els dèficits d'aprenentatge apareixen en aquells animals amb un tractament en els períodes pre i postnatal i només en laberints), aquests mateixos investigadors realitzen, pocs anys més tard, un estudi amb l'objectiu d'avaluar la severitat i el *timing* (temporització) de la manca d'hormones tiroïdals per tal d'induir alteracions en diferents tasques d'aprenentatge. Els resultats mostren dèficits en l'aprenentatge no tan sols en laberints, sinó també en paradigmes simples com en els aprenentatges de patrons d'alternació simple (*single-alternation pattern learning*) i discriminació operant simple en les rates amb tractament amb goitrogen en els períodes pre i postnatal (Davenport et al., 1976). A més, s'assenyala que si bé no hi ha diferències en l'adquisició d'una resposta operant en pitjar la palanca (*operant bar-pressing task*), aquests animals mostren una resistència més alta a l'extinció (Davenport i Hennies, 1976). Per altra part, els grups d'animals amb un tractament només postnatal no mostren dèficits en els aprenentatges. Per aquestes raons, els investigadors assenyalen que les majors aportacions dels seus estudis pel que fa al *timing* de

la manca d'hormones tiroïdals és el fet d'haver posat de manifest que el període crític de la deficiència tiroïdal per provocar dèficits en l'aprenentatge de laberints en rates té un llindar d'edat baix, proper al divuitè dia de gestació, ja que quan l'exposició al tiouracil comença en aquest dia és molt més determinant que l'administració postnatal iniciada des del naixement, alhora que l'exposició iniciada abans d'aquest dia augmenta molt poc el grau de deteriorament mostrat en l'adultesa.

Els autors indiquen que aquestes alteracions en els aprenentatges i, sobretot, la resistència a l'extinció poden indicar efectes en la motivació de l'animal provocats per la manca d'hormones tiroïdals (Davenport i Hennies, 1976).

Malgrat tot, aquests mateixos autors argumenten que considerar un únic període crític pels diferents efectes que té la manca d'hormones tiroïdals sobre el desenvolupament és massa precipitat, ja que el *timing* de màxima vulnerabilitat a la deprivació tiroïdal pot ser quelcom diferent per als diferents tipus d'efectes conductuals (alteracions motivacionals vs. trastorns d'aprenentatge) i, possiblement, fins i tot per als distints tipus de dèficits d'aprenentatge (Davenport et al., 1976). Segons els autors, aquestes disparitats serien explicades pel fet que el *timing* d'un període crític per un determinat efecte sobre el desenvolupament depèn tant de l'aparició ontogenètica com de la mitjana de maduració dels mecanismes fisiològics subjacents en aquest efecte.

Schalock, Brown i Smith realitzen un estudi per tal de determinar els efectes conductuals i neuroanatòmics, així com els efectes sobre els nivells de tiroxina en la rata adulta després de patir un hipotiroïdisme neonatal fins al deslletament. L'hipotiroïdisme experimental neonatal provoca canvis conductuals a llarg termini caracteritzats per una activitat en augment i un decrement en l'execució d'un aprenentatge d'evitació i fugida

(Schalock et al., 1977; 1979). Aquest canvis conductuals poden ser deguts al fet que els animals hipotiroïdes mostren una tendència a mantenir una taxa de resposta clarament consistent durant totes les sessions de test en lloc d'augmentar o disminuir, segons el cas, la taxa de resposta (Schalock et al., 1977; 1979). Aquestes alteracions conductuals estarien relacionades, segons els autors, amb les alteracions sinàptiques que aquests animals presenten. També s'assenyala que els efectes a llarg termini de l'hipotiroïdisme neonatal depenen de la conducta específica mesurada i del nombre de vegades que aquesta es mesura (Schalock et al., 1977).

Aquesta darrera afirmació seguiria la línia dels altres treballs citats fins ara que tenen present la variació dels períodes de desenvolupament ontogenètic de les diferents estructures neurals implicades en cada conducta estudiada. En aquest sentit, un aspecte criticable d'aquest estudi és la manca de manipulació prenatal, si bé fins als darrers treballs del grup de Davenport, aquesta afectació prenatal, com ja s'ha dit, no es creia necessària.

Altres autors han avaluat els efectes a llarg termini de l'hipotiroïdisme perinatal en conductes locomotrius espontànies. Comer i Norton (1985) utilitzen tres mètodes diferents per avaluar la conducta espontània ja que "possiblement representen tres tipus diferents de funcions del sistema nerviós central i, per tant, poden reflectir efectes en els diversos sistemes" (Comer i Norton, 1985). En el primer mètode, l'exploració d'un laberint espacial avaluat a les cinc setmanes d'edat, els resultats mostren que no hi ha diferències entre les rates de control i les tractades amb l'antitiroïdal. Només s'observen diferències si es tenen en compte les entrades completes i incompletes en els braços del laberint. Així les rates de control freqüentment retornen a l'àrea de sortida després d'haver iniciat l'entrada al braç; les rates tractades, un cop entren al braç, rarament retornen a l'àrea de sortida abans que trobin

la barrera final (Comer i Norton, 1985).

Aquest tipus de mesura (entrades completes i incompletes) s'ha emprat com un índex de perseveració suau. Aquesta perseveració, però amb un grau més elevat, també es pot observar en una distribució alterada en les entrades als braços d'un laberint radial com ocorre en lesionar l'hipocamp (Olton, 1977) o després d'una malnutrició perinatal (Jordan et al., 1980).

En l'avaluació de l'activitat en el laberint residencial (*residential maze activity*), emprat com a segon mètode d'avaluació, també apareixen diferències de tal manera que les rates tractades es tornen hiperactives amb l'edat, en relació a les de control (Comer i Norton, 1985). Segons aquests autors, hi ha altres dades presents en la literatura que suggereixen la perseveració que ells troben en les rates madures després d'un hipotiroïdisme perinatal, d'aquesta manera destaquen que en el treball de Eayrs i Lishamn (1955) ja s'indica que les rates hipotiroïdes perinatalment mai ressegueixen les seves passes i tenen un cent per cent d'èxit en la mitjana de travessar un pal punxegut (*tapering spar*), en canvi, les rates de control es mostren indecises i només aconseguen travessar en el setanta-cinc per cent dels assaigs. En aquest sentit també podem recordar que Eayrs ens diu que els animals "cretins" són plàcids i més fàcils de manipular que els normals, s'habituen ràpidament a situacions noves i aprenen fàcilment problemes simples (Eayrs, 1960), mentre que és un fet constatat que els animals de control en un ambient nou tendeixen a "congelar-se".

Pel que fa a l'anàlisi del patró de caminar (*walking pattern analysis*) als quatre mesos d'edat, el darrer mètode emprat pels autors, s'observa que el pas de les rates tractades presenta una més gran asimetria que el de les rates de control, si bé no es diferencien ni en la llargària ni en l'amplitud. Segons els autors, aquests canvis funcionals a llarg termini no

eren inesperats ja que les conseqüències de l'hipotiroïdisme primerenc en la conducta poden ésser irreversibles a causa dels efectes permanents en la diferenciació neuronal (Comer i Norton, 1985).

Comer i Norton acaben el seu treball conclouent que si s'avaluen conductes que no puguin reflectir tendències perseveratives "es pot arribar a la conclusió que no hi han efectes a llarg termini de l'hipotiroïdisme primerenc en la conducta espontània". Aquesta última afirmació aniria en el mateix sentit de les conclusions que es poden extreure dels treballs citats prèviament de Schalock i col·laboradors.

També s'ha demostrat que la radiotiroïdectomia (destrucció de la tiroïdes mitjançant iode radiactiu) provoca l'eliminació del desenvolupament característic de l'activitat locomotriu que s'observa normalment en les cries, així com retarda la maduració de la conducta d'alternança espontània avaluada en un laberint en T. Quan aquestes rates, que han sofert una radiotiroïdectomia neonatal, són avaluades quan són adultes no difereixen de les de control en la resposta d'alternança, però sí que es mostren molt més actives que les de control en la prova del camp obert (Sobrian et al., 1976). Aquesta dada de l'activitat en el camp obert contrasta amb els resultats aportats per Morgan i Einon (1976) que no troben diferències en la conducta en el camp obert entre el grup d'animals que ha rebut el fàrmac antitiroïdal durant l'al·letament i aquells animals que havien estat criats en condicions de no aïllament, en canvi, entre aquests dos grups i el grup d'animals criats en condicions d'aïllament sí que hi ha diferències, ja que aquest darrer grup no mostra l'habitual disminució de les pautes del camp obert quan aquesta prova es passa més d'una vegada consecutiva.

Hendrich, Porterfield i Jackson (1984) es proposen avaluar conductualment les cries de mares hipotiroïdes amb l'objectiu d'establir un model animal a partir del retard mental.

Els resultats d'aquest estudi ens indiquen que les cries de mares hipotiroïdes avaluades conductualment entre els 40 i 60 dies d'edat presenten dèficits d'aprenentatge i memòria (avaluats mitjançant un laberint tipus Lashley), així com també presenten un alt grau d'hiperactivitat (avaluada amb activímetres, *stabilimeter*). Per altra part, s'assenyala que l'hiperactivitat observada en aquests animals és un tret que normalment es troba en nens retardats i és un indicador de dèficits en els mecanismes de control que regulen l'habilitat de l'individu per seleccionar i mantenir l'atenció per una determinada tasca (Hendrich et al., 1984). Fent referència als dèficits d'aprenentatge manifestats per aquests, els autors indiquen que impliquen alteracions en la memòria i acaben el seu treball conclouent que els fills adults de mares hipotiroïdes poden ser un bon model animal per l'estudi del retard mental "a causa de les seves condicions físiques generals, els fills de mares hipotiroïdes ben bé poden ser superiors, com a model animal, als nounats hipotiroïdes els quals pateixen també molts problemes metabòlics similars" (Hendrich et al., 1984). En canvi, Attree et al. (1992) observen que els animals fills de mares tiroïdectomitzades són menys actius que els animals de control en la prova del camp obert als 76 dies d'edat. A més a més, aquests autors avaluen la reactivitat emocional amb un test d'emergència després del qual es realitza la prova del camp obert. El grups d'animals fills de mares tiroïdectomitzades mostra unes latències molt més grans que els animals de control. Segons els autors, aquesta dada no tan sols pot indicar una menor activitat, sinó que pot implicar un increment en l'emocionalitat d'aquests animals (Attree et al., 1992).

En els estudis de Tamasy et al (1986a, 1986b), s'avalua conductualment a les rates, tant mascles com femelles, hipotiroïdes des del naixement. Els resultats d'aquests treballs ens diuen que les rates hipotiroïdes no difereixen de les de control en l'aprenentatge d'evitació

passiva, mentre que en l'aprenentatge d'una resposta condicionada mostren una adquisició pitjor i una no capacitat per l'extinció d'una resposta condicionada. Pel que fa a les mesures d'activitat exploratòria, els autors observen que les rates hipotiroïdes presenten una menor exploració mesurada en nombre d'aixecades (*rearings*) i forats explorats (*head-dips*) en un *hole-board*, així com també mostren una defecació menor respecte les de control. Malgrat tot, en aquest treball s'accentua molt més que aquests animals, després de quatre dies consecutius realitzant la mateixa prova, són incapaços d'habituar la seva activitat exploratòria, diferint clarament dels de control en aquest aspecte. En aquest treball es destaca el fet que "durant l'extinció de la resposta d'evitació activa, les rates hipotiroïdes mostren una no capacitat per l'extinció, és a dir, la inhibició de la resposta condicionada prèviament apresada. En canvi, ells exhibeixen una perseveració estereotipada, específica de la situació ambiental, de la pauta somatomotora" (Tamasy et al., 1986b).

A raó del fet que es pensa que el procés d'extinció està associat amb la intervenció cortical superior i amb mecanismes inhibidors prosencefàlics, que normalment es desenvolupen de manera tardana en el període postnatal, els autors apunten la possibilitat que aquests mecanismes puguin estar afectats adversament per l'hipotiroïdisme postnatal (Tamasy et al., 1986b).

2.1.2 Els efectes de l'excès d'hormones tiroïdals

Schapiro (1968) va ser el primer en avaluar els efectes de l'excès neonatal de tiroxina, si bé Eayrs (1966) havia mirat els efectes d'aquesta administració sobre diversos reflexos. Schapiro constata que l'administració de tiroxina neonatalment provoca un augment de l'activitat locomotriu en rates de 40 dies d'edat, i una més ràpida adquisició d'una conducta d'evitació que no es manté en el temps, mostrant aquests animals una obertura d'ulls més

primerenca.

Quan a les cries se'ls administra durant els tres o quatre primers dies de vida postnatals tiroxina, via injecció subcutània, aquests animals mostren una acceleració en la maduració de la conducta durant les dues setmanes següents al tractament. D'aquesta manera les rates tractades mostren abans que les de control el reflex d'aixecada, l'obertura d'ulls o la conducta de nedar (Davenport et al., 1973). L'acceleració en l'aparició d'aquestes conductes depèn de la dosi (dosi-dependent), ja que quan aquesta s'augmenta, l'aparició és molt més primerenca (Davenport et al., 1975). Però quan aquests animals són una mica més grans mostren dèficits en diferents tipus d'aprenentatge: els animals tractats amb tiroxina neonatalment mostren una pitjor execució en els aprenentatges de laberint, d'evitació passiva i d'evitació activa, que els animals de control (Davenport et al., 1973). Les rates tractades amb altes dosis de tiroxina neonatalment es mostren hiperactives respecte les de control, als 13 dies d'edat i als sis mesos d'edat les rates tractades cometen moltíssims errors en el laberint en comparació a les de control (Davenport et al., 1975). L'efecte de l'administració de tiroxina neonatal sobre la conducta en el camp obert de la rata adulta ha estat estudiada per Sjöden i Söderberg (1976 a i b). Segons aquests autors, l'administració, mitjançant una única injecció intraperitoneal, d'una dosi de 50 micrograms de tiroxina provoca un augment de la deambulació i les aixecades respecte als animals de control, tant en mascles com en femelles, quan s'avaluen en un camp obert als 4 mesos i mig (Sjöden i Söderberg, 1976a), als set mesos i als 90 dies d'edat, en canvi, aquest tractament no té efectes ni en un aprenentatge d'evitació passiva, ni en un aprenentatge d'evitació activa, avaluat en els dos sentits als sis mesos d'edat o als tres mesos, respectivament (Sjöden i Lindqvist, 1978). En aquests treballs també s'avalua l'efecte que les condicions de cria tenen.

De manera que s'observa que l'experiència d'ésser criat en un ambient enriquit fins al deslletament pot "normalitzar" parcialment la conducta en el camp obert de les rates tractades amb tiroxina neonatalment, essent aquest efecte més accentuat en les femelles. Aquest fet s'explica per la interacció entre la taxa de desenvolupament del sistema nerviós i l'efecte de l'estimulació ambiental (Sjöden i Söderberg, 1976 a i b). Quan les condicions de cria, ambients enriquits o empobrits, es varien després del deslletament, no tenen cap efecte sobre la conducta hiperactiva que mostren en el camp obert les rates tractades amb tiroxina neonatalment, però sí que reverteix la hiperactivitat que mostren aquestes rates en els tests d'evitació activa i passiva (Sjöden i Lindqvist, 1978).

Altres treballs centrats en l'estudi de diferents aprenentatges utilitzen l'administració de la tiroxina per tal d'alterar la morfologia de les fibres molsoses (*mossy fibers*) hipocàmiques. L'any 1977, Lauder i Mugnaini van demostrar que l'hipertiroidisme primerenc alterava la distribució de les projeccions infra i intrapiramidals de les fibres molsoses i, juntament amb treballs posteriors, s'ha arribat a establir que la tiroxina provoca un creixement exuberant d'aquestes projeccions. Aquesta dada ha estat emprada pel grup de treball de Schwegler, a on hi figuren altres investigadors com Crusio o Lipp, per tal de validar la hipòtesi que correlaciona la morfologia d'aquestes projeccions amb els diferents tipus d'aprenentatge. En aquest sentit s'ha trobat una correlació negativa molt forta entre la mida d'aquestes projeccions i un aprenentatge d'evitació activa de dos sentits (Schwegler i Lipp, 1981, 1983; Schwegler et al., 1981; Lipp i Schwegler, 1982), mentre que per l'aprenentatge d'un laberint radial-espacial s'observa una correlació positiva (Crusio i Schwegler, 1990; Schwegler, Crusio, Brust; 1990). Després d'haver obtingut cries selectives en funció dels resultats conductuals (aprenentatge), aquests autors han comprovat la

morfologia neuronal hipocàmica, fent especial referència a les fibres molsoses, així han postulat que quantes més fibres molsoses hi hagin fet sinapsi amb les dendrites basals de les neurones CA3 hipocàmiques, pitjor serà l'execució d'un aprenentatge d'evitació activa de dos sentits i millor la d'un laberint radial. Aquests autors, per tal de validar la seva hipòtesi, han emprat soques que han estat seleccionades per tenir poques projeccions infra i intrapiramidals de les fibres molsoses, per tant, tindran una bona execució en la *shuttlebox* i dolenta en el laberint, i els hi han administrat tiroxina durant els dotze primers dies de vida. S'observa que l'hipertiroïdisme primerenc empitjora l'aprenentatge d'evitació activa en dos sentits (Lipp et al., 1988); mentre que el mateix tractament provoca que els animals mostrin una millor execució, respecte els de control, en un laberint radial, que implica tant memòria de treball com memòria de referència (Crusio i Schewegler, 1991). D'aquesta manera queden confirmades les hipòtesis dels autors.

2.1.3 Les hormones tiroïdals i l'aparició dels reflexos

Tal i com s'ha assenyalat al començament d'aquest apartat, un nombre considerable de treballs han focalitzat la seva atenció en l'estudi de l'aparició de diverses respostes reflexes. Donades les característiques del nostre treball no farem una revisió acurada d'ells. Malgrat tot volem destacar els treballs de Johanson (Johanson et. al, 1980 i Johanson, 1980), ja que, si bé se centren en respostes molt primerenques, són patrons conductuals complexos essencials per a la supervivència de l'animal. Així, en un primer estudi, aquesta autora, conjuntament amb Turkewitz i Hamburg, avalua el desenvolupament del *homing* o reflex d'orientació al niu en animals hiper i hipotiroïdes. El *homing* és una conducta ben estudiada que consta d'una resposta d'orientació cap a la mare, cap a les altres cries i cap al niu. És una resposta complexa ja que no tan sols requereix una anàlisi detallada de la informació

ambiental, sinó que també és necessari la integració d'aquests *inputs* sensorials amb un *output* motriu. Els autors d'aquest treball ens diuen que la *home orientation* apareix aparentment intacte en les cries hipotiroïdes, malgrat ho faci amb alguns dies de retard, mentre que l'excés d'hormones tiroïdals no accelera l'aparició d'aquesta resposta.

Així doncs, i com a resum d'aquest apartat, podem dir que la manca d'hormones tiroïdals durant el desenvolupament deteriora greument el desenvolupament del sistema nerviós central, retarda la maduració del reflexos innats i la conducta i deteriora permanentment l'habilitat d'adquirir algunes formes complexes d'aprenentatges. Aquestes alteracions s'han atribuït a l'efecte d'aquestes hormones sobre la diferenciació neuronal. Per altra part, no podem parlar d'un únic període crític pels diferents efectes que sobre la conducta té la manca d'hormones tiroïdals. Però sí que sembla clar que és necessària l'afectació prenatal.

3. LES HORMONES TIROÏDALS I LA REHABILITACIÓ

Com ja s'ha assenyalat, l'hipotiroïdisme neonatal és el causant del cretinisme i, a causa de les seves dràstiques conseqüències, l'any 1976 es va iniciar una campanya a Amèrica, Europa, el Japó i Austràlia per tal que l'*screening* neonatal fos una prova obligatòria (Dussault, 1983). Això fou possible gràcies al fet que pocs anys abans, al Canadà, es va obtenir, mitjançant radioimmunoassaig, la concentració de T_4 a partir de mostres de sang en paper de filtre que s'extreien per mesurar la fenilcetonúria. Aquesta tècnica es va mostrar fàcil i efectiva. D'aquesta manera es feia possible, gràcies a un bon diagnòstic precoç, la possibilitat de rehabilitació, ja que ja es disponia del tractament molts anys abans. La teràpia que s'utilitza és la teràpia de reemplaçament de les hormones tiroïdals. Així doncs,

davant la implantació de l'*screening* neonatal i l'estès ús de la teràpia hormonal de reemplaçament en nadons i nens hipotiroïdes, hi han autors que assenyalen que "es fa necessari el coneixement propi dels mecanismes, de manera extensa i generalitzada, de la rehabilitació d'aquesta alteració" (Tamasy et al., 1986a). Malgrat que la necessitat d'aquest tipus d'estudi és prou clara, aquest no s'ha portat a terme amb el mateix volum de treball que els centrats en l'estudi de l'animal hipotiroïde, o que aquells focalitzats en demostrar que la teràpia hormonal de reemplaçament pot prevenir la incidència dels efectes conductuals i neurals provocats per l'hipotiroïdisme congènit.

Així, en l'àmbit de la conducta, ens trobem amb unes observacions primerenques realitzades per Eayrs i col·laboradors (1966), però ens hem de remuntar a mitjan dels anys vuitanta per trobar-nos amb els treballs realitzats per Paola S. Timiras i col·laboradors centrats en avaluar els mecanismes i el grau de recuperació de l'hipotiroïdisme primerenc, tant en mascles com en femelles (Tamasy et al, 1986a, 1986b). S'avalua quin grau de recuperació espontània hi ha quan es deixa de donar el fàrmac goitrogènic (la tiroïdectomia química és reversible) sense administrar una teràpia hormonal de reemplaçament. Els resultats d'aquests treballs ens diuen que les rates rehabilitades d'ambdós sexes mostren un increment de l'activitat locomotriu, però no difereixen de les de control ni en un aprenentatge d'evitació passiva ni en l'aprenentatge d'una resposta condicionada.

Altres treballs, que han estat exposats en l'apartat anterior, com el de Schalock et al. (1977 i 1979) i el de Comer i Norton (1985), també poden ésser considerats com a treballs que avaluen el grau de recuperació espontània, ja que tots ells provoquen estats d'hipotiroïdisme mitjançant tiroïdectomia química. Malgrat tot, donat que l'objectiu d'aquests treballs era avaluar els efectes a llarg termini de l'hipotiroïdisme neonatal, ens ha semblat

més escaient incloure'ls, en una revisió com aquesta, en l'apartat anterior, sense oblidar, però, que els resultats que aporten poden considerar-se com a dades d'animals recuperats de l'hipotiroïdisme primerenc.

4. ELS EFECTES DE LES HORMONES TIROÏDALS EN L'EDAT ADULTA

L'estudi dels efectes del distiroïdisme en l'animal adult ens indiquen que hi ha una influència de les hormones tiroïdals en la funció neuronal, tant químicament com fisiològicament (Ford i Cramer, 1977). El volum de treballs realitzats per avaluar la conducta dels animals que experimentalment se'ls hi ha induït el distiroïdisme en edat adulta, és molt petit i els resultats són controvertits. S'ha assenyalat que induir en l'animal adult canvis en la conducta mitjançant tiroïdectomia o administrant hormones tiroïdals no s'aconsegueix ràpidament (Eayrs, 1960). Així, els intents duts a terme, utilitzant aquests procediments, per estudiar la implicació de les hormones tiroïdals en conductes tals com l'activitat espontània (Hall i Lindsay, 1938; Brody, 1941), l'adquisició o l'execució d'una resposta condicionada (Liddell i Bayne, 1926; Anderson, 1941), o en tasques discriminatòries (Kleitman i Teitelbaum, 1936; Thompson i Kenshato, 1954) han aportat resultats negatius o inconsistents. I si en el treball de Mann (1942) es mostrava que l'administració de tiroxina provocava petits canvis en l'aprenentatge de laberints, i si bé Rickey (1952) proposava que la tiroïdectomia reduïa la capacitat de les rates adultes per aprendre un laberint, aquests resultats no han estat encara confirmats (Rockwell, 1931; Eayrs, 1960).

Aquestes inconsistències entre els diferents resultats experimentals s'han atribuït a aspectes metodològics tals com l'edat dels animals, les diferents dosis emprades (Crisler, Booher, Van liere i Hall, 1933) o a factors motivacionals (Denenberg, 1958). Si bé Eayrs

(1960) ens diu que la influència de les hormones tiroïdals sobre la conducta de l'animal adult és relativament petita.

Malgrat tot, Fundaró (1989) ens mostra alteracions conductuals en animals fets hipo o hipertiroïdes en l'edat adulta. Així els animals hipotiroïdes mostren una menor activitat, mesurada en nombre de deambulacions en un camp obert, que els animals de control. Els animals que pertanyen al grup d'alt hipertiroïdisme també mostren un decrement en l'activitat. Aquest darrer resultat és contradictori amb els resultats obtinguts prèviament per Emlen et al (1972) que observen un augment, i amb els obtinguts per Rastogi i Singhal (1976) que, si bé observen que les rates hipertiroïdes mostren un augment en l'activitat respecte les de controls, aquesta diferència no és estadísticament significativa. Aquest decrement de l'activitat, Fundaró (1989) el relaciona amb un increment de l'emocionalitat ja que, en l'estat hipertiroide, s'han observat alteracions emocionals (Fundaró i Molinengo, 1987) i és ben coneguda la relació entre les hormones tiroïdals i el sistema catecolaminèrgic. Fundaró (1989) també troba alteracions en un aprenentatge d'extinció: tant els grups d'animals hipertiroïdes com els hipotiroïdes mostren una menor taxa de resposta, és a dir, una millor extinció que els de controls. Els autors interpreten que en els animals hipotiroïdes la menor taxa de resposta serà una conseqüència del decrement d'activitat que aquests animals mostren, mentre que en els hipertiroïdes aquesta menor resistència a l'extinció la interpreten com una millora en l'execució que suggereix una millora tant en els processos d'aprenentatge com de memòria.

3. L'HIPOCAMP

L'hipocamp, que rep el seu nom del llatí *hipocampus* (cavallet de mar) per la seva aparença macroscòpica, forma part de l'anomenada regió hipocampal. Aquesta estructura telencefàlica ha estat àmpliament estudiada anatòmicament des que Ramon i Cajal i el seu deixeble Lorente de Nó van dur a terme els seus, ja clàssics, treballs amb la tècnica de Golgi. Des d'aleshores ençà han estat nombrosos els treballs realitzats, emprant diferents tècniques, per tal d'elucidar la seva citoarquitectura així com visualitzar les diferents connexions que hi ha en aquesta estructura de l'encèfal anterior (*arqueopallio*). De tal manera que, actualment, la regió hipocampal, i concretament la de la rata, és una de les estructures neurals més ben conegudes (Bayer, 1985). Tal i com els hipocampologistes reconeixen (Amaral et al., 1990), ells són els culpables que durant dècades s'hagi considerat la formació hipocampal com una estructura relativament simple i, per tant, han fet que es considerés com una regió adient per estudiar les relacions entre estructura i funció. Malgrat tot, hi ha una implicació potencialment errònia en l'afirmació "l'hipocamp és simple", i és pensar que l'organització d'aquesta estructura està àmpliament entesa (Amaral et al., 1990). Si bé és cert que està ben establert l'esquema organitzacional bàsic de l'anatomia hipocàmica, a hores d'ara és difícil, pels hipocampologistes, respondre a certes preguntes dels fisiòlegs i d'aquells recercadors que intenten establir models computaritzats de l'hipocamp, ja que encara existeixen alguns forats oberts en el coneixement dels circuits hipocampals, fins i tot en l'àmbit descriptiu.

La formació hipocampal ocupa la major part de les parts ventroposteriors i ventrolaterals de l'escorça cerebral i comprèn quatre regions ben diferenciades (vegis Fig 3):

- El gir dentat.
- L'hipocamp pròpiament dit, el qual pot ser dividit en tres sub-camps CA1, CA2 i CA3.
- El complex subicular, el qual també pot ser dividit en tres subdivisions: el subículum, el presubículum i el parasubículum.
- L'escorça entorrinal, la qual, i sobretot en els rosegadors, sovint es divideix en medial i lateral.

Ens sembla oportú incloure en aquest punt uns aclariments pel que fa a la terminologia emprada. En l'àmbit anatòmic, sovint quan es parla d'hipocamp es fa referència a la formació hipocàmica. Nosaltres preferim utilitzar els dos termes, és a dir, o bé parlarem de formació hipocàmica per a designar el conjunt de les quatre estructures, o bé parlarem de l'hipocamp en concret. Per altra part, cal assenyalar que alguns anatomistes parlen del corn d'Ammó (del llatí *cornu ammonis*, fent referència al déu egipci Ammó representat pels corns de moltó), que pot dividir-se en tres camps (CA1-CA3), i consideren l'hipocamp com el conjunt del gir dentat i el corn d'Ammó (Bayer, 1985). Nosaltres mantindrem el terme **hipocamp** com a sinònim del corn d'Ammó i quan parlem del gir dentat se'n farà referència explícita.

3.1 Citoarquitectura de l'hipocamp:

El corn d'Ammó és un plec d'escorça en forma d'U, que conté una capa estreta de cèl·lules piramidals. Aquesta capa piramidal s'estén des del prosubículum fins a l'hilius del gir dentat, i presenta diferències citoarquitectòniques, de tal manera que s'hi poden distingir tres regions o subcamps diferents:

Fig 3. Tall coronal del cervell de rata a on es poden observar la formació hipocampal i les diferents zones que el componen (GD: Gir dentat; CA1, CA2 i CA3: els diferents camps que componen l'hipocamp; S: subículum; PS presubículum; PaS: parasubículum; EL: escorça entorrinal lateral i EM: escorça entorrinal medial; Tècnica de Golgi amb talls 4x)

- Adjacent al prosúbiculum hi ha una camp de cèl·lules de mida mitjana empaquetades estretament. En la seva descripció, Cajal (1911) li va donar el nom de *regio superior*.

La terminologia que ha arribat als nostres dies és la que va emprar Lorente de Nó (1934), que la va denominar CA1. (Lorente de Nó la va subdividir en tres zones més, zones a, b i c.).

- Després del camp CA1, hi ha un camp de cèl·lules grans i menys densament empaquetades, que Cajal va anomenar *regio inferior* i el seu deixeble, CA2 i CA3.

Les cèl·lules piramidals CA2 es troben situades en la banda estreta al costat de CA1 i es poden distingir clarament de les cèl·lules piramidals CA3 en les preparacions de Golgi, perquè no presenten les característiques espines en les dendrites apicals.

Lorente de Nó va subdividir aquest camp en tres zones (a, b i c) en funció del nombre de col·laterals de Schaffer que sorgien de les cèl·lules.

Lorente de Nó (1934) considerava que l'àrea hiliar era part del corn d'Ammó i la va anomenar camp CA4. L'hilus conté cèl·lules polimòrfiques, fusiformes i cèl·lules piramidals modificades. Actualment, l'hilus es considera com una zona de transició entre el gir dentat i el corn d'Ammó (Bayer, 1985).

Lorente de Nó (1934) considerava que l'àrea hiliar era part del corn d'Ammó i la va anomenar camp CA4. L'hilus conté cèl·lules polimòrfiques, fusiformes i cèl·lules piramidals modificades. Actualment, l'hilus es considera com una zona de transició entre el gir dentat i el corn d'Ammó (Bayer, 1985).

Les cèl·lules piramidals del corn d'Ammó es caracteritzen per presentar dos grups principals de dendrites que s'estenen des del cos cel·lular:

- La **dendrita apical** és una única tija que s'esté des de l'àpex del pericarió a través de l'*stratum radiatum* fins a l'*stratum lacunosum moleculare*. Les cèl·lules CA1 emeten, a la capa radiatum, algunes ramificacions primes (fines) i en angle des del tall de la dendrita principal. A la capa lacunosum moleculare es forma un plomall dens com a resultat de les moltes dendrites secundàries i terciàries que sorgeixen.

- Les dendrites basals surten de llocs molt diversos de la base del pericarió. Aquestes constants bifurcacions donen lloc a un altre plomall a l'*stratum oriens*.

L'axó d'aquestes cèl·lules piramidals tant pot iniciar-se en el pericarió com arrencar dels segments proximals de les dendrites basals, i es dirigeix cap a l'*alveus* (una banda estreta de substància blanca en la base de la *capa oriens*) a on es pot bifurcar. Aquesta bifurcació és especialment prevalent en les cèl·lules CA1, de tal manera que una branca es dirigeix cap al subículum mentre que l'altre es dirigeix cap a la fímbria. A la *capa oriens* els axons de les cèl·lules CA3 donen ramificacions recurrents, que es coneixen amb el nom de **col·laterals de Schaffer**, les quals pugen fins a la capa lacunosum moleculare, on adopten un gir per dirigir-se fins a la capa lacunosum moleculare del camp CA1 i continuar caudalment.

3.2 Connexions intrínseques de la formació hipocampal:

Com ja s'ha dit, les connexions bàsiques de la formació hipocampal han estat ben establertes a partir dels estudis clàssics de Ramon y Cajal i Lorente de Nó, i amb estudis realitzats amb tècniques degeneratives (estudis que també han derivat a clàssics com Blackstad i col·laboradors, entre d'altres). Aquest circuit bàsic ens indica que les diferents estructures de la formació hipocampal estan enllaçades per projeccions excitatòries i en la seva major part unidireccionals. Un esquema d'aquest circuit bàsic es pot veure en la següent figura:

Fig 4. Representació gràfica del circuit bàsic de les connexions de la formació hipocampal (De Amaral i Witter, 1989).

El gir dentat rep l'input més gran de l'escorça entorrinal a partir de l'anomenada via perforant, que s'origina a les capes superficials (Witter, 1993). Les cèl·lules granulars del gir dentat projecten els axons, mitjançant les fibres molsoses (*mossy fibers*), sobre el camp CA3 de l'hipocamp. Les cèl·lules piramidals CA3 originen els axons col·lateralitzats que finalitzen dins del camp CA3, essent aquestes unes connexions d'associació, que han estat anomenades feix associacional longitudinal. Tanmateix, les cèl·lules piramidals CA3 subministren l'input més gran del camp hipocàmpic CA1, les col·laterals de Schaffer.

A principi dels anys setanta, Andersen i col·laboradors (1971), a partir dels seus estudis de caire fisiològic i recolzant-se amb aquestes dades anatòmiques, van proposar la

"hipòtesi laminar" per a l'organització anatòmica de la formació hipocampal. En síntesi, aquests autors proposaven que l'escorça hipocampal semblava estar organitzada en làmines paral·leles. Donada aquesta organització, les petites làmines de l'escorça hipocampal podrien operar com a unitats funcionals independents, si bé les connexions transversals excitatòries i inhibidores podrien modificar la conducta (l'activitat) de les làmines veïnes (Andersen et al., 1971).

Aquesta proposta teòrica de l'organització intrínseca de la formació hipocampal va exercir una forta influència en la conceptualització del processament de la informació en la formació hipocampal i va generar l'establiment de diferents tecnologies *in vitro* per estudiar aquesta estructura. Per altra banda, d'aleshores ençà, l'anatomia hipocàmica ha estat àmpliament estudiada amb diferents tècniques de marcatge. Els treballs obtinguts amb un d'aquests marcadors anterògrads, el *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin, que es va introduir a mitjan dels anys vuitanta, han posat en dubte aquesta "hipòtesi laminar" (Amaral & Witter, 1989).

Aquests treballs no tan sols han confirmat les dades que ja es tenien de moltes més connexions intrínseques de la formació hipocampal, sinó que també han proporcionat la imatge més clara per entendre l'organització tridimensional de les connexions intrínseques hipocampals.

En primer lloc, cal assenyalar que la confirmació d'aquestes connexions intrínseques ha ampliat el diagrama del circuit bàsic hipocampal, tal i com es pot veure en la següent figura:

Fig 5. Esquema del circuit de les connexions intrínseques de la formació hipocampal (Amaral i Witter, 1989)

La via perforant presenta dos tipus d'organització. En primer lloc, la via perforant mostra una organització topogràfica al llarg de l'eix longitudinal de la formació hipocampal, de manera que el gradient lateral-medial de l'escorça entorrinal correspon al gradient septal-temporal en la formació hipocampal (Amaral i Witter, 1989). El segon aspecte de la organització de la via perforant fa referència a les cèl·lules on s'origina. La via perforant s'origina a les capes superficials de l'escorça entorrinal, en concret a les capes II i III, en funció del lloc on s'originen projecten en diferents parts de la formació hipocampal els axons, alhora que també mostren diferències en la seva organització terminal (Witter, 1993). Així s'ha establert que les fibres de la via perforant que s'originen a la capa II entorrinal arriben principalment al gir dentat i als camps CA3 i CA2 (també es projectarien en el

subículum). A més a més, s'ha observat que, si bé totes les cèl·lules de la capa II entorrinal projecten les terminacions en tota l'extensió transversal d'aquestes zones hipocampals, les cèl·lules de l'àrea entorrinal lateral envien les fibres a les parts més exteriors de la capa molecular i de l'*stratum lacunosum-moleculare*, mentre que les projeccions de l'àrea entorrinal medial arriben en el centre d'aquestes capes (Witter, 1993). Hi han alguns indicis, en la rata, que aquestes anomenades vies perforants, "lateral" i "medial", són funcionalment diferents (Witter et al., 1989).

Les cèl·lules que s'originen a la capa III entorrinal projecten els axons exclusivament en el camp CA1 i en el subículum. Per altra part, les fibres de l'àrea entorrinal lateral acaben al voltant de la separació del camp CA1 amb el subículum, és a dir, a la part distal del camp CA1 i a la part proximal del subículum. En canvi, les projeccions que s'originen a l'àrea entorrinal medial acaben en altres parts d'aquestes zones: en el camp CA1 finalitzen en la part proximal, és a dir, acaben molt a prop de la separació amb el CA2, i en el subículum arriben en la part distal, molt propers a la separació del presubículum (Witter, 1993). Així doncs, sembla ser que els camps CA3 i CA2 i el gir dentat serien activats difusament per l'escorça entorrinal al llarg de tot l'eix transversal d'un nivell septotemporal concret amb una selectivitat al llarg de les dendrites de la cèl·lula d'aquest nivell inervat. Contràriament, tant el camp CA1 com el subículum semblen rebre un input espacialment molt més selectiu de l'escorça entorrinal.

Les connexions que la formació hipocampal envia cap a l'escorça entorrinal semblen provenir del camp CA1 i del subículum i, malgrat s'havia dit que també s'originaven a CA3, estudis més recents, tant en rates com en monos, descarten aquest tipus de projeccions (Amaral i Witter, 1989). Aquestes presentarien una organització similar a la descrita en la

via perforant (Witter, 1993).

Pel que fa a l'organització de les fibres molsoses, totes les dades anatòmiques indiquen que les projeccions del gir dentat es distribueixen al llarg de tota l'extensió transversal del camp CA3, formant-se una sinapsi *en passant* en les porcions proximals de les dendrites de les cèl·lules piramidals (Amaral i Witter, 1989).

Una dada intrigant és que el gir dentat posseeix un sistema associacional, molt ben elaborat i desenvolupat, que s'origina en les neurones que es localitzen a l'*hilius* del gir dentat i s'activa per les col·laterals de les fibres molsoses, la qual cosa implica que es rep una còpia de l'activitat que és transferida a les neurones piramidals CA3 (Witter, 1993). En aquest circuit s'hi han descrit dos sistemes intrínsecs diferents: un sistema que s'originaria en les neurones somatostatina i GABA - positives, que tindrien un paper inhibitori, i un altre sistema que s'originaria en les neurones glutaminèrgiques, excitatori (Amaral i Witter, 1989).

Les col·laterals de Schaffer presenten una organització molt àmplia i, fins fa molt poc, desconeguda. Les fibres que s'originen a la part proximal del camp CA3, propera al gir dentat, projecten les terminacions principalment en la part distal del CA1, propera al subículum, i preferentment en la part superficial de l'*stratum radiatum*. Per la seva part, les fibres que s'originen en el camp CA3 proper al CA1 arriben als nivells més profunds de l'*stratum radiatum* i en l'*stratum oriens* de la zona del CA1 propera al CA3 (Witter, 1993). Les col·laterals de Schaffer presenten una organització al llarg de l'eix transversal i una organització al llarg de l'eix longitudinal del CA1: s'ha observat que les cèl·lules properes al gir dentat (proximal al CA3) tendeixen a projectar-se preferentment en una direcció septal, mentre que les properes al CA1 tendeixen a distribuir els seus axons cap una direcció temporal.

També s'ha posat de manifest recentment aquesta doble organització, una al llarg de l'eix transversal i una altra al llarg de l'eix longitudinal, en les connexions entre el CA1 i el subículum (Amaral et al., 1991).

Les conclusions més importants d'aquests estudis ens indiquen que la majoria de les projeccions de la formació hipocampal estan fortament i extensament organitzades tant al llarg de l'eix septotemporal com al llarg de l'eix transversal, i que algunes de les projeccions de la formació hipocampal, com poden ésser les projeccions associatives que s'originen en el gir dentat, semblen estar organitzades específicament per tal d'integrar nivells distants de la formació hipocampal (Amaral i Witter, 1989). Alhora que l'organització que presenta la via perforant indicaria que hi ha un processament diferent de la informació en els diferents camps hipocampals (Witter, 1993). És per tot això que sembla molt més adient considerar la formació hipocampal com una regió cortical tridimensional amb un important processament d'informació que es dona tant en l'eix longitudinal com transversal (Amaral i Witter, 1989; Witter, 1993). L'esquema d'aquesta organització tridimensional es pot veure reflectit en la figura 6 (veure pg. 59).

Així doncs, com a conclusió d'aquests estudis, sembla ser que tan sols podem considerar com a fibres molsoses les que estan organitzades de manera laminar, mentre que pel que fa a les altres connexions presenten, com a norma, una organització contrària (*opposite*).

3.3 Connexions extrínseques de la formació hipocampal

Les principals aferències de la formació hipocampal es poden veure resumides en la següent taula:

Regió	Aferències
Escorça Entorrinal	<ul style="list-style-type: none">- Tronc de l'encèfal (nucli dorsal del raphe i tegemental reticular del pons).- Locus coeruleus.- Area tegemental ventral.- Hipotàlem (nucli magnocèl·lular i supramamillar)- Tàlem (nucli reuniens i talàmic anterior)- Septum (medial).- Amígdala (nucli cortical, lateral i basolateral).
Complex subicular	<ul style="list-style-type: none">- Tronc de l'encèfal (nuclis del raphe).- Locus coeruleus.- Tàlem (nucli talàmic anterior i reuniens)- Septum (medial).- Amígdala (nucli cortical, lateral i basolateral).
Hipocamp	<ul style="list-style-type: none">- Tronc de l'encèfal (nuclis del raphe).- Locus coeruleus.- Tàlem (nucli reuniens).- Septum (banda diagonal septal).- Escorça piriforme.
Gir Dentat	<ul style="list-style-type: none">- Tronc de l'encèfal (nuclis del raphe).- Locus coeruleus.- Septum (medial).

Donat que la formació hipocampal ha estat implicada i descrita com a component crític del sistema de memòria del lòbul temporal medial (Witter, 1993), volem destacar,

pel seu possible significat funcional, les connexions que la formació hipocampal presenta amb aquestes àrees corticals. D'entrada, cal destacar que les principals connexions corticals de la formació hipocampal les presenta l'escorça entorrinal, i és l'escorça entorrinal, i no la formació hipocampal, la que forma part de molts circuits multisinàptics còrtico-corticals (Witter, 1993), que estarien implícits en el possible rol funcional d'aquest sistema.

Les aferències corticals que rep l'escorça entorrinal formen dos grups: aquelles aferències que acaben en les capes superficials de l'escorça entorrinal i aquells inputs que acaben en les capes profundes. Donat que la via perforant s'origina en les capes superficials, les aferències que arriben a aquestes capes superficials poden ésser considerades com la major font d'entrada d'informació cortical a la formació hipocampal. En canvi, es creu que les aferències que arriben a les capes més profundes influenciarien aquelles neurones que també reben l'influència de l'*output* de l'hipocamp pròpiament dit. Aquests dos tipus de connexions corticals també es diferencien en la manera que projecten: les aferències profundes tendeixen a projectar de manera difusa i les aferències superficials presenten una distribució rostrocaudal i/o mediolateral.

Les aferències corticals que arriben a les capes superficials de l'escorça entorrinal, almenys en els rosegadors i el gat, provenen de la part olfactiva del telencèfal, concretament del bulb olfatori, del nucli anterior olfatori i de l'escorça piriforme. Aquestes projeccions es distribueixen rostrocaudalment tant en l'àrea entorrinal medial com la lateral, i probablement tan sols la part més caudal de l'àrea entorrinal medial no rebria inputs olfactivus (Witter, 1993). Altres aferències de les capes superficials provenen de l'escorça perirrinal que lateralment envolta a l'escorça entorrinal (Witter, 1993).

A les capes profundes de l'escorça entorrinal, les projeccions corticals que hi arriben

L' Hipocamp

provenen d'una àmplia varietat d'àrees corticals que juntes poden ésser agrupades com a escorces límbiques i paralímbiques. Si bé aquestes projeccions no han estat estudiades de manera acurada en els rosegadors, tot sembla indicar que hi hauria una projecció topogràfica, de tal manera que les parts rostrals de l'escorça límbica arribarien predominantment en les parts rostrals de l'àrea entorrinal medial i les parts més caudals ho farien en la porció caudal de l'àrea entorrinal medial (Witter et al, 1989).

Pel que fa a les principals eferències també es poden veure resumides en el següent quadre:

Regió	Eferències
Escorça Entorrinal	<ul style="list-style-type: none">- Arees límbiques neocorticals (escorça prefrontal medial, cos callós)- Nucli accumbens.- Complex caudat-putamen.- Tubercle olfàctori i nucli anterior olfàctori.- Amígdala (nucli cortical, anterior i central).
Complex subicular	<ul style="list-style-type: none">- Tàlem (nucli talàmic anterior i reuniens).- Hipotàlem (Cossos mamil·lars).- Nucli anterior olfàctori.- Septum (lateral).- Nucli accumbens.- Amígdala (nucli lateral).- Escorces prefrontal medial i cingulada caudal.
Hipocamp	<ul style="list-style-type: none">- Septum (nucli septal lateral).- Bulb olfàctori i nucli olfàctori anterior.- Cos callós.

Com s'ha vist anteriorment, les principals dianes dels axons de les cèl·lules del gir

dentat són les cèl·lules piramidals del camp CA3 de l'hipocamp mitjançant les fibres molsoses.

4. TEORIES PSICOLÒGIQUES DE LA FUNCIO HIPOCAMPAL

Tal i com Schmajuck (1984) assenyala, l'hipocamp ha estat descrit com una estructura cerebral meravellosament organitzada vers la recerca d'una funció. De fet han estat molts els intents duts a terme per tal d'assignar-li una funció psicològica concreta i, fins i tot, s'ha apuntat que la funció putativa de l'hipocamp sembla dependre del "clima" psicològic dominant del moment. Les primeres hipòtesis sobre les funcions de la formació hipocampal van ser fetes pels anatomistes, els quals postulaven que la formació hipocampal podria ser el centre superior de l'olfacció (de l'olfacte), ja que les vies olfactives entren en aquesta estructura i en altres parts del sistema límbic. La manca d'una àrea cortical de projecció de l'olfacció corresponent a les existents per la visió, l'audició i el tacte recolzava aquesta idea, de tal manera que durant molts anys el sistema límbic ha estat conegut com el "cervell olfatiu" o *rhinencefal* (Douglas, 1967). Aquesta hipòtesi fou posada en dubte quan Allen (1940) va demostrar que les discriminacions olfactives podien ser apreses malgrat l'hipocamp hagués estat extirpat, i a més es va posar de manifest que la formació hipocampal rebia inputs de moltes altres fonts sensorials, a més a més de l'olfactiva.

Una altra hipòtesi de la funció de la formació hipocampal s'origina a partir dels treballs de Kluver i Bucy (1939) i de les idees de Papez (1937) i MacLean (1949). Papez va proposar la idea que un circuit funcional connectaria l'hipocamp, els cossos mamil·lars, el nucli anterior del tàlem, el gir cingulat i altre cop amb l'hipocamp, implicant aquest circuit

en l'activitat emocional. Aquesta idea es va veure recolzada amb les dades de Kluver i Bucy (1939), que van descriure una síndrome conductual estranya que era causada per una lesió del lòbul temporal de dimensions tan grans que afectava l'amígdala i l'hipocamp. Aquesta lesió, realitzada en monos, que es coneix amb el nom de la síndrome de Kluver-Bucy, comporta canvis en l'elecció de la dieta, (oralitat, *orality*), mansuetud, hipersexualitat, ceguesa psíquica i hipermetamorfosi, que els autors defineixen com aquella tendència a examinar repetidament un objecte com si no s'hagués vist mai. Així doncs, el sistema límbic va ser proposat com a cervell visceral o emocional i es considerava que l'hipocamp era el seu centre de control. Per tant, doncs, es tenia l'idea que l'hipocamp era necessari per a la integració de les funcions emocionals i/o del sistema nerviós autònom. Amb el pas dels anys han anat apareixent altres dades que han posat en dubte aquesta hipòtesi. Per exemple, es va saber que la mansesa observada per Kluver i Bucy era deguda a la lesió de l'amígdala, ja que està ben establert que les lesions d'aquesta estructura provoquen la mansuetud, fins i tot en animals que són de natura molt ferotge, tals com el linx o l'agutí. Per altra part, quan es realitza una lesió que afecta exclusivament l'hipocamp, no apareix cap dels altres símptomes emocionals descrits en la síndrome de Kluver-Bucy. És per aixó que, davant d'aquestes dades contradictòries, l'idea de l'hipocamp com a cervell visceral es va anar deixant de banda (Douglas, 1967).

Una altra hipòtesi sobre la funció de l'hipocamp va sorgir de dades clíniques. Malalts als quals se'ls havia practicat grans lesions en el lòbul temporal amb una finalitat terapèutica, sovint patien forts dèficits de memòria. Aquest efecte, que s'anomenà pèrdua de la memòria recent, consisteix en la no capacitat de recordar aquelles coses que fa pocs minuts que han succeït i, en canvi, poder recordar sense cap dificultat aquelles coses que els van succeïr

abans que fossin operats. Aquesta símptomatologia va ser associada a l'hipocamp quan es va demostrar que no es donava si l'hipocamp no era inclòs en la lesió (Scoville i Milner, 1957) i que aquests malalts presentaven un patró d'atenció normal (Penfield i Milner, 1958). Aquestes dades clíniques, malgrat van donar lloc a una hipòtesi, que va ésser dominant durant molts anys, sobre quina seria la funció de la formació hipocampal, no han estat confirmades mai per estudis amb animals hipocampotomitzats o amb lesions hipocàmiques (Douglas, 1967).

Hi han altres teories o models més recents sobre la funció de la formació hipocampal. Totes les teories existents tenen unes característiques comunes (Schumajuk, 1984) que són:

- L'assignació d'una única funció psicològica.
- Impliquen la col·laboració de les diferents regions de la formació hipocampal per tal de dur a terme aquesta funció.
- Fan referència a una suposada formació hipocampal genèrica dels mamífers.
- L'avaluació dels models es fa mitjançant la seva capacitat de predir la conducta provocada per lesions hipocampals.

Aquestes teories psicològiques de la formació hipocampal poden classificar-se tenint present quina ha estat la funció psicològica que se li ha assignat, de tal manera que podem parlar de teories que impliquen mecanismes d'atenció, mecanismes d'inhibició de respostes, o bé, que impliquen memòria.

4.1 Teories que impliquen mecanismes d'atenció

L'any 1959, Graystyan et al. van proposar que l'hipocamp podria inhibir la resposta d'orientació cap a estímuls no rellevants (no significants). Aquesta idea es recolzava amb

dades electroencefalogràfiques i amb la correlació positiva existent entre el ritme desincronitzat de l'hipocamp, anomenat ritme theta, i l'aparició del reflex d'orientació. Aquesta visió, la correlació entre l'arousal, o atenció, i el ritme theta, va ser suggerida per primer cop per Green i Arduini (1954) i més endavant va ser adoptada per Douglas i Pribram (1966).

Douglas i Pribram (1966) assenyalen que l'hipocamp exclouria als estímuls de l'atenció, mitjançant el control de la recepció sensorial. De tal manera que aquest control podria inhibir la recepció dels estímuls que han estat associats amb un no reforçament. Aquest plantejament recorda la formulació pavloviana d'inhibició interna, però reformulada en termes d'atenció (Schmajuk, 1984). No és estrany que, Kimble, l'any 1968, ens digui que "l'hipocamp és una de les parts de la maquinària neural necessària per generar un procés cerebral que funcionalment és equivalent a la inhibició interna pavloviana". L'any 1972, Douglas reformula la teoria que, conjuntament amb Pribram, havia proposat pocs anys abans. Douglas, basant-se en el model de Sokolov per al control de les respostes d'orientació (1960), ens parla de l'existència de dos sistemes: el sistema motivacional i el sistema analitzador. El sistema analitzador inclouria el neocòrtex, els nuclis talàmics no reticulars, l'amígdala i l'hipocamp. Per la seva banda, el sistema motivacional estaria format per la formació reticular, l'hipotàlem i el tàlem reticular. La funció del sistema analitzador seria examinar els inputs sensorials i formar associacions que serien dutes a terme mitjançant l'activació del sistema motivacional. De tal manera que quan l'hipocamp associa un estímulo amb un no reforçament, bloquejaria l'activació del sistema motivacional reduint la prioritat atencional d'aquest estímulo.

Aquestes tres darreres formulacions es basen en la idea que l'hipocamp és l'òrgan de

la inhibició interna, i tots ells relacionen la inhibició interna amb els mecanismes d'atenció. Aquests decreixen l'atenció cap als estímuls no reforçats en els models de Douglas i Pribram i en el de Douglas, o bé, canvien l'atenció d'un estímulo a un altre en el model de Kimble.

Pribram i Isaacson (1975) proposen que l'hipocamp computaritza de manera molt ràpida (*fast-time*), és a dir, que pot avançar la probabilitat que una conducta tingui èxit o no abans que la conducta hagi finalitzat. De tal manera que si la probabilitat és alta, aleshores l'animal no canviarà la seva conducta; però si la probabilitat és baixa, segons els autors, perquè s'ha detectat alguna novetat, un canvi conductual es posarà de manifest. Recolzant-se en el model de Sutherland i Mackintosh (1972) d'aprenentatge discriminant, Pribram i Isaacson assenyalen que aquests canvis conductuals impliquen tant factors d'atenció com factors de resposta. De tal manera que l'hipocamp actuaria sobre l'amígdala per tal de produir canvis en l'atenció i sobre els ganglis basals i el sistema nigrostriatal per produir canvis en la resposta.

L'any 1979, Solomon, basant-se en els treballs empírics realitzats amb animals hipocampotomitzats (cal destacar que fou aquest autor qui observà que, després de produir-se una lesió hipocàmica, no es donava la inhibició latent), va suggerir que, entre moltes d'altres funcions, l'hipocamp podria estar implicat en la formació d'un mapa temporal (*temporal map*). Aquest mapa temporal consistiria en l'enregistrament de la seqüència temporal dels esdeveniments (els estímuls condicionats i els incondicionats), ignorant-se o eliminant-se els estímuls irrellevants.

Moore (1979) va proposar un model neural per tal d'explicar com el mapa temporal podria participar en la funció desentonitzadora (*tuning out*) de l'hipocamp. El model neural de Moore era particularment adequat pel condicionament de la resposta de la membrana

nictitant del conill.

La funció desentonitzadora de l'hipocamp, que es veu reflectida en les propostes de Solomon i Moore, va ser molt més precisada per Moore i Stickney (1980) en proposar un model matemàtic de la funció hipocampal que partia de la teoria de l'atenció de Mackintosh. En definitiva, Moore i Stickney proposen que l'hipocamp estaria implicat en el càlcul de la variable alfa mackintoshniana, una variable de caire atencional.

4.2 Teories que impliquen mecanismes d'inhibició de resposta

Entre les teories que impliquen mecanismes d'inhibició de la resposta destaquen les de Gray et al. (1982) i la reformulació que aquest mateix autor va dur a terme pocs anys més tard.

Segons Gray et al. (1978), l'hipocamp inhibeix les respostes no reforçades, mentre l'animal determina la millor estratègia conductual davant del canvi de condicions. El sistema d'inhibició de la resposta respon a tres tipus d'inputs:

- estímuls condicionats al càstig,
- estímuls condicionats a la frustració (no reforçament),
- estímuls nous, i quan el sistema d'inhibició de la resposta s'activa provoca:
 - a) la inhibició de la conducta de les respostes condicionades,
 - b) l'augment de l'activació (arousal), i
 - c) l'increment de l'atenció cap a l'entorn i de manera especial cap als nous estímuls.

En la reformulació d'aquest model, Gray (1982) suggereix que la funció de l'hipocamp és comparar els estímuls actuals amb els esperats. Si l'estímul actual i l'esperat són el mateix la conducta es manté, però si no hi ha acord, o prediu un estímul aversiu,

aleshores l'hipocamp és el que controla la conducta, provocant la inhibició conductual i incrementant l'atenció. També s'inicia la conducta exploratòria per tal de provar noves hipòtesis sobre l'aparellament no correcte dels estímuls.

Els models que impliquen inhibició de la resposta són una variació dels models que impliquen la idea pavloviana d'inhibició interna, però sense que hi siguin subjacents els mecanismes de l'atenció. Un exemple clar d'aquest paral·lelisme el trobem en Gray et al. (1978), que consideren que el seu model és molt similar als proposats per Douglas i Pribram (1966) i Kimble (1968). Malgrat tot, en un article posterior, Gray et al. (1979) recorren a la distinció feta per Konorski (1948), que diferencia entre inhibició d'una resposta clàssica i inhibició d'una resposta instrumental. La inhibició d'una resposta clàssica seria la inhibició interna pavloviana, mentre que la inhibició d'una resposta instrumental és anomenada **inhibició de la resposta**.

4.3 Teories que impliquen memòria

Un dels primers en implicar l'hipocamp en la memòria fou Adey (1966), que va suggerir que el ritme theta estava associat amb l'estat d'activitat d'aquesta estructura quan estava processant, emmagatzemant i recordant informació per i des de la memòria.

Smythies (1966) va formular que l'hipocamp era una estructura necessària per tal que la informació que hi ha en la memòria a curt termini (localitzada en l'escorça sensitiva primària) fos emmagatzemada en la memòria a llarg termini (que se situa en l'escorça temporal). Per aquest autor l'hipocamp és un comparador, que compara els *inputs* que provenen de l'escorça entorrinal amb els *inputs* que venen del sept. Si es reben dos patrons d'inputs similars, les neurones piramidals es desapareixen i la informació és emmagatzemada en

la memòria a llarg termini, al mateix temps s'activa la formació reticular per tal d'incrementar l'*arousal*. L'*input* septal pot transmetre, alternativament, informació procedent de l'hipotàlem sobre l'estat emocional de l'organisme o bé la informació que ja està emmagatzemada en la memòria. Per la seva banda, l'*input* entorrinal porta informació sobre l'entorn. Segons Smythies, l'hipocamp tant pot seleccionar la informació per ser emmagatzemada en la memòria permanent, comparant-la amb l'estat motivacional que ve del septe, com pot classificar els inputs sensorials en funció d'experiències precedents.

Kornhuber (1973) va formular un model semblant, ja que proposà que el sistema límbic era l'encarregat de seleccionar quina és l'informació que ha de ser emmagatzemada en la memòria a llarg termini. La selecció de la informació es faria en funció del seu valor biològic. El circuit implicat en la selecció de la informació inclouria l'escorça cingular, l'escorça parahipocampal, l'hipocamp, els cossos mamil·lars i el nucli anterior del tàlem.

Per Hirsh (1974), l'hipocamp és una part del sistema que determina quina informació és recuperada de la memòria. Hirsh defineix la recuperació contextual com la recuperació d'un ítem d'informació emmagatzemada que s'inicia amb un indicatiu que serveix de referència per tal de recuperar la informació.

Un altre model que implica la memòria és el proposat per Vinogradova (1975). Vinogradova suggereix que el sistema límbic pot ésser dividit en dues parts:

- La **part informativa**, que inclouria la fascia dentata, la regió CA1, els cossos mamil·lars, el nucli anterior del tàlem i les escorces cingulada i entorrinal. La funció d'aquesta part seria preservar la qualitat de la informació sensorial.
- La **part reguladora**, que inclouria la regió CA3, el septe lateral i medial i la formació reticular, no té en compte la qualitat dels inputs sensorials sinó que la seva

funció és detectar la novetat, cosa que dur a terme comparant les senyals que li arriben de la formació reticular amb aquelles traces que li arriben de les àrees associatives de l'escorça.

Segons Vinogradova, el sistema límbic funciona de tal manera que quan un senyal, procedent de la formació reticular arriba al CA3, no coincideix amb la senyal que prové de l'escorça, la regió CA3 passa a un estat de novetat. En aquest estat, la inhibició que el CA3 exerceix sobre la formació reticular desapareix, de tal manera que la formació reticular s'activa fins que s'ha dut a terme l'anàlisi de la traça nova. Com el propi autor reconeix, aquesta formulació és molt semblant a la proposada per Kornhuber, ja que la informació s'aplega el magatzem, a llarg termini neocortical, sota el control de la part reguladora del sistema límbic.

Per O'Keefe i Nadel (1978), l'hipocamp és un sistema de cartografia espacial. Per aquests autors una de les dues maneres d'emmagatzemar la informació és mitjançant mapes espacials, que es defineixen com a sèries de llocs connectats, de tal manera que la informació és emmagatzemada fent referència a les coordenades espacials. Aquest model implica tres àrees anatòmiques de la formació hipocampal:

- la *fascia dentata* que convertiria els senyals que arriben referits a coordenades espacials relatives en un sistema cartogràfic en coordenades absolutes.
- la regió CA3, que seria la que construiria la representació, en forma de mapa espacial, dels llocs i les seves connexions.
- la regió CA1, la qual contindria un sistema de novetat que detectaria qualsevol canvi en l'entorn.

Un altre model que implica la formació hipocampal en els processos de la memòria

és el que van proposar Olton i col·laboradors (1979), que la van relacionar amb la memòria de treball. Olton et al. han proposat l'existència de dos tipus de memòria: la memòria de referència, lligada als aspectes més o menys permanents d'un experiment, i la memòria de treball, que estaria relacionada amb els aspectes d'un assaig dins de l'experiment. La memòria de treball difereix de la memòria de referència, en el fet que aquella requereix unes associacions entre l'estímul i la resposta de caire més flexible que fix, en canvi, la memòria de referència no les requereix. Per altra part, les interferències són més grans en la memòria de treball que en la de referència. Una altra diferència entre aquests dos tipus de memòria radica en el fet que la de treball reté la informació sobre l'ordre temporal dels estímuls.

Aquesta formulació ha estat contrastada i comparada amb la visió del mapa espacial que anteriorment ha estat descrita. Olton i col·laboradors van dissenyar un seguit d'experiments amb laberints radials per tal de confrontar ambdues hipòtesis. En aquests estudis les rates aprenien quins eren els braços que eren recompensats i quins eren els braços que ja s'havien visitat en un assaig previ i no s'havien de tornar a visitar ja que no contenien menjar. Les rates amb lesions hipocàmiques tenien deteriorades tant la memòria de referència (el mapa espacial), com la memòria de treball, però la memòria de referència retornava als nivells normals.

Aquestes dades van començar una "guerra" entre els partidaris de la memòria espacial i els de la memòria de treball, que es pot veure reflectida en el munt de treballs, que a principi dels vuitanta, van ser publicats per tal de recolzar cadascuna de les hipòtesis.

4.4 Quina és la funció de la formació hipocampal ?

Tal i com s'ha assenyalat, l'avaluació de cadascun dels models es realitza en funció de les dades obtingudes amb els animals lesionats. D'aquesta manera tots els models citats

semblen tenir algunes dificultats per tal de predir algunes de les dades experimentals.

Les teories que impliquen la inhibició interna (com són els models de Douglas i Pribram, Kimble i Douglas) es contradiuen amb el fet que les lesions hipocàmiques no sempre provoquen un deteriorament de la inhibició condicionada.

Els models que impliquen mecanismes d'atenció, com poden ser els proposats per Grastyan et al., Douglas, Moore, Solomon i Moore i Stickney, poden explicar les dades dels treballs en inhibició latent, bloqueig o *overshadowing* (emascarament), ja que requereixen un sistema que desentonitzi (*tuning out*) la informació irrellevant, molt millor que els mecanismes de canvis atencionals proposats per Smythies, Kimble, Pribram i Isaacson i Gray et al.

Les teories que impliquen la inhibició de la resposta, com poden ser les de Isaacson, Altman et al., Gray et al. o Gray, tenen certes dificultats amb el fet que els animals amb lesions hipocàmiques poden inhibir les respostes. A més a més, ni el model de Isaacson ni el model de Altman prediuen dèficits atencionals.

Entre les teories que impliquen processos de memòria n'hi ha que no prediuen l'amnèsia retrògrada (Kornhuber i Vinogradova), i els que la prediuen (Hirsh i O'Keefe i Nadel) també prediuen l'absència de l'aprenentatge latent. La taula 1 ens mostra les prediccions que es poden fer a partir dels diferents models exposats en cadascuna de les situacions experimentals concretes. També s'hi pot observar quines són les dades experimentals que s'han recollit després d'una lesió hipocampal. Com es fa patent, si bé és cert que alguns models prediuen les situacions millor que d'altres, no hi ha cap model que pugui explicar tots els símptomes de la síndrome hipocampal.

Dades Experimentals	Efecte Lesió	Atenció						Inhibició de resposta				Memòria							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Habitució a la Novetat	D	D	D	N	D	D	D	D	D	-	D	D	D	D	D	D	D	D	D
Adquisició	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	D	N	N
Extinció	D	D	D	D	D	N	D	D	D	D	D	D	D	D	-	D	-	D	N
Discriminació Inversa	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	-	D	-	D	N
Alternança Espontània	D	D	D	N	D	-	D	D	D	D	D	D	N	D	N	D	D	D	D
Inhibició Latent	D	D	D	D	D	D	N	N	N	D	N	N	N	D	-	D	-	D	N
Bloquejament	D	D	N	D	D	D	N	N	N	D	N	N	N	D	-	D	-	N	N
Emmascarament	D	D	D	D	D	D	N	N	N	D	N	N	N	D	-	D	-	N	N
Inhibició Condicionada	N	N	D	N	N	N	N	D	D	N	N	D	D	N	D	N	D	N	N
Evitació Passiva	D	N	D	D	D	-	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	N
Aprenentatge de Laberints	D	D	D	N	D	-	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
Aprenentatge Latent	N	N	N	N	-	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	D	D	D	N
Memòria Retrógrada	D	N	N	N	-	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	D	N	D
Memòria de Treball	D	D	N	N	N	-	N	N	N	D	D	N	N	D	D	D	D	D	D

Taula 1. Prediccions fetes per cada model de les alteracions conductuals sota diferents paradigmes experimentals que provocaran les lesions de la formació. Les teories segueixen l'ordenació exposada en el text.

- 1: Grastyan 6: Moore-Stickney 12: Smythies 18: Olton D: Déficits
2: Kimble, Douglas 7: Isaacson 13: Gaffan N: No hi ha déficits
i Douglas-Pribram 8: Altman 14: Kornhuber -: No fan prediccions
3: Pribram-Isaacson 9: Gray (1978) 15: Hirsh Taula adaptada de
4: Solomon 10: Gray (1982) 16: Vinogradova Schmajuk (1984)
5: Moore 11: Adey 17: O'Keefe-Nadel

Per altra banda, tal i com s'ha assenyalat, tots aquests models revisats fins ara porten implícita una única funció psicològica que, com s'ha exposat, va des de la inhibició interna pavloviana fins al concepte de memòria de treball, passant per altres com el mapa cognitiu, la inhibició de la resposta o la teoria de l'aprenentatge discriminat. Assumir que la formació hipocampal té una única funció psicològica implica la identificació d'una àrea cerebral localitzada amb una activitat psicològica concreta. Aquest tipus d'aproximació comporta, tal i com Schmajuck indica, diversos problemes metodològics:

- En primer lloc, no tenim fonaments per assumir que els conceptes psicològics no-espacials puguin ésser sobreimposats a construccions espacials del cervell (Luria, 1966). Aquest argument lurià no deixa de tenir el seu pes, si bé és cert que s'ha intentat que els constructes teòrics psicològics convergissin amb els fisiològics.
- Per altra part, qualsevol canvi en les teories psicològiques en curs afecta a la que es considera que ha de ser la funció d'aquesta estructura.
- Malgrat es creu que la formació hipocampal és una estructura funcionalment homogènia, les diferents regions de les que consta poden implicar-se de manera diferent en la conducta.
- A més, lesions d'altres àrees cerebrals (lesions neoestriatals, per exemple) poden afectar la mateixa funció psicològica. I sembla clar que les lesions d'àrees concretes cerebrals comporten principalment la pèrdua de moltes funcions psicològiques.

Alguns dels models revisats, els de Douglas, Pribram i Isaacson, Moore, Adey, Gray o Vinogradova, entre d'altres, conceptualitzen la formació hipocampal com un mecanisme computaritzat (*computational device*). Aquesta visió implica que els processos psicològics estan distribuïts entre diferents regions del cervell, i que cada regió porta a terme una funció

per separat, tals com l'anàlisi, la síntesi, les comparacions de la informació que arriba amb els resultats anticipats,... Aquesta visió era anomenada per Luria **localització sistemàtica en contraposició a la localització funcional** que implicaria un procés psicològic - una regió cerebral.

Alguns autors van optar per definir la formació hipocampal com un mecanisme computaritzat i no atribuir-li una única funció psicològica (Schmajuk, 1984). De tal manera que el cervell era vist com un sistema d'unitats processadores d'informació interconnectades, que duen a terme càlculs (anàlisi, síntesi, comparació, emmagatzament, detecció,...) en les representacions dels diferents esdeveniments (estímul, respostes, estats interns,...). D'acord amb els models de Adey (1966), Smithies (1966), Kornhuber (1973), Vinogradova (1975), O'Keefe i Nadel (1978) i Gray (1982), un dels càlculs duts a terme per la formació hipocampal seria la comparació de la informació emmagatzemada amb la informació que arriba.

Potser per resoldre aquestes crítiques, en els últims anys han aparegut diversos models de múltiples processos de la funció hipocampal, de tal manera que se li assigna més d'una funció psicològica (Akase et al, 1989; Port et al., 1985; Schmajuk i Moore, 1988). Aquests models es basen, i també han promogut, en la implicació de circuits particulars de la formació hipocampal en diferents aprenentatges. Aquest pot ser un punt a favor d'aquests models, ja que a partir de dades anatòmiques es pretén estudiar les implicacions de la formació hipocampal en l'aprenentatge i la memòria. Aquesta aproximació ha aportat interessants resultats com que les lesions de la via perforant lateral provoquen un decrement per la preferència a la novetat i un augment general de l'activitat conductual, mentre que les lesions en la via perforant medial, malgrat provocar hiperactivitat, ho fan en un grau menor

(Myhrer,1988); o la clara implicació de la via perforant medial en l'adquisició d'una conducta condicionada simple, com és l'evitació activa d'un sentit (Port et al., 1991).

La teoria que ha mostrat una major potència heurística amb el pas dels anys ha estat la del mapa cognitiu de O'Keefe i Nadel, si bé ha estat revisada pel propi Nadel (1991) i altres autors s'han basat en ella per donar-li altres funcions a la formació hipocampal (Eichenbaum et al., 1986 i 1988). Des de la seva formulació, els termes mapa cognitiu o la seva aplicació més usual, l'anomenat aprenentatge espacial, han anat lligats a la formació hipocampal. La implicació de la formació hipocampal en l'aprenentatge i la memòria espacial, tant en rates com en diferents espècies d'ocells, sembla indiscutible (Nadel, 1991). Davant del fet que hi ha dades que demostren que les lesions hipocàmiques provoquen alteracions de memòria en aprenentatges no espacials, s'ha proposat que l'hipocamp seria crític en aquelles representacions memorístiques de relacions entre múltiples indicis (*cues*) independents, però que no seria necessari per a l'aprenentatge que pogués basar-se en adaptacions d'indicis individuals (Eichenbaum et al., 1988)

Una altra hipòtesi basada en el mapa cognitiu és l'anomenada *gated-informational transfer hypothesis*, proposada per Sanchez-Andrés, Olds i Alkon (1993). Aquesta formulació suposa que l'hipocamp actuaria com una porta pel traspàs de la informació sensorial de diversos tipus cap a àrees corticals que permetria la formació dels mapes cognitius (Sanchez-Andres et al., 1993). La formació d'aquest mapa dependria tant del fet que l'hipocamp estigués intacte com de la integritat de la informació per si mateixa. D'aquesta manera, quan la informació que arriba a l'hipocamp no és del tot correcta (com per exemple, en el desenvolupament primerenc) la porta es tancaria i tan sols quan la informació que arribés a la formació hipocampal permetés la formació del mapa cognitiu, aquesta porta hipocàmica

s'obriria (Sanchez-Andres et al., 1993).

Altres autors han criticat la teoria de O'Keefe i Nadel mostrant el seu desacord en el concepte del mapa cognitiu. Un dels més crítics ha estat Amsel (1993), que assenyala que aquest concepte està poc definit tant en rates com en humans i que seria molt més útil emprar conceptes clarament establerts dins dels diferents fenòmens del condicionament. Per aquest autor, totes les dades conductuals que lliguen l'hipocamp amb el mapa cognitiu poden ser més ben explicades per altres funcions proposades per Tolman, i que fan referència a l'aprenentatge discriminatiu, com és l'assaig vicari i l'error (*vicarious trial and error*) (Amsel, 1993). Aquest concepte pot ser vist com la manifestació externa de les tendències conflictives d'aproximació i evitació a l'hora d'escollir un punt, i com una actualització de la reacció anticipatòria de Hull que Amsel va precisar com la manifestació d'un conflicte originat entre l'anticipació del reforç i l'anticipació de la frustració (Amsel, 1958).

Els posicionaments més recents coincideixen en no atorgar una única funció psicològica a la formació hipocampal. Pensem que tota implicació que es vulgui atribuir a la funció hipocampal, hauria de tenir present quina és la citoarquitectura, així com quins són els circuits hipocàmics implicats en les possibles funcions psicològiques. Tal i com s'ha exposat, l'arquitectura hipocampal és complexa i presenta una organització ben estructurada, és per això que creiem que la formació hipocampal pot desenvolupar més d'una funció psicològica, com la seva implicació en la memòria, si bé sembla prou clar que en la formació hipocampal no s'hi emmagatzema memòria, si que és essencial en la formació de memòria, així com en l'adquisició de determinats aprenentatges com pot ser l'aprenentatge espacial o el d'una resposta condicionada simple. Altres dades que no es poden oblidar és la implicació de la formació hipocampal en la inhibició de respostes.

5. LES ESPINES DENDRÍTIQUES

L'any 1873, Golgi va descobrir una tècnica que permetia l'impregnació i la tinció d'aproximadament el 10 % de les cèl·lules del SNC (sistema nerviós central). Aquesta tècnica ha permès que l'estructura de les neurones hagi estat estudiada en detall, tant amb el microscopi òptic com amb l'electrònic. I probablement Golgi ja va poder visualitzar les espines dendrítiques, però segurament les va observar com a artificis provocats pels precipitats metàl·lics deguts a la tècnica de Golgi (Horner, 1993). Però va ser Cajal el primer en descriure i publicar els dibuixos d'aquestes protuberàncies, admetent la seva existència definitiva com a estructures reals en l'escorça cerebral, l'any 1891. D'aleshores ençà, la seva existència ha estat reconfirmada tant amb el microscopi òptic com amb l'electrònic. Les espines dendrítiques són unes petites protuberàncies o excrescències que neixen en les dendrites neuronals, a les quals se'ls atribueix funcions de gran importància, malgrat continuen essent unes grans desconegudes.

Les espines dendrítiques, que varien de forma i de grandària, posseeixen una estructura comuna que consta d'un cap, on es dona el contacte sinàptic, i un peduncle, relativament estret, connectat amb la dendrita. Normalment es localitzen al llarg de les dendrites, si bé també s'han visualitzat ocasionalment en el soma i l'axó proximal de les neurones, essent en aquests casos més petites i presentant un menor nombre. Les espines dendrítiques sorgeixen individualment del tall dendrític, però, a vegades, poden sorgir d'un peduncle comú, el qual es bifurca per donar dos peduncles, cadascun d'ells amb un cap. Només en rares ocasions un peduncle pot tenir dos bulbs finals, els quals sorgeixen directament del peduncle comú (Peters i Kaiserman-Abramof, 1970).

En funció de la seva forma, les espines dendrítiques s'han classificat en tres tipus bàsics:

- Les rabassudes (*stubby*) : generalment curtes i gruixudes.
- En forma de fong (*mushroom-shaped*) : aquelles que presenten un peduncle gruixut que s'expandeix en un terminal bulbós.
- Les fines (*thin*) : són primes i s'expandeixen (engruixir) en un petit òval o bulb arrodonit.

El significat funcional d'aquesta diversitat de formes o de tipus d'espines no ha estat aclarit encara. El fet que les espines dendrítiques rebin aferències que sinapten en elles, fa suposar que els diferents tipus d'espines poden ser responsables de la recepció d'aferències de fonts diferents (Laatsch i Cowan, 1966). Malgrat tot, les espines rabassudes són les úniques que semblen estar confinades a una àrea concreta (acabament proximal de les dendrites) i els altres tipus d'espines es localitzen al llarg de la dendrita. Si no estiguessin relacionades amb diferents *inputs* aferents, la forma de l'espina podria venir determinada per la mida de l'axó terminal en la sinapsi, la qual cosa també suggereix una dependència de l'input aferent (Peters i Kaiserman-Abramof, 1970).

Pel que fa a la grandària de les espines, també s'ha observat una àmplia variació, tant dins d'una mateixa neurona com entre neurones. Centrant-nos en l'hipocamp, s'ha vist que les espines de les cèl·lules piramidals del CA1 normalment tenen entre 1.2 i 1.4 μm de llargària; el diàmetre dels caps arrodonits de les espines oscil·len entre 0.6 i 1.0 μm i els caps allargats tenen uns diàmetres curts i llargs que es mouen en un rang d'aproximadament 0.4 i 1.2 μm . Per la seva banda, el diàmetre dels peduncles pot ser com a molt de 0.5 μm (Westrum i Blackstad, 1962). Aquestes dimensions dels peduncles fa que, com a norma,

quasi no siguin observables en estudis amb microscòpia òptica. En un estudi més recent s'ha observat que les espines de les cèl·lules piramidals del CA1 tenen una llargària de $0.9 \mu\text{m}$ de mitjana, i un diàmetre del cap de l'espina de $0.5 \mu\text{m}$, si bé hi ha un rang molt ampli entre les dimensions de cada espina individual (Horner i Arbuthnott, 1991). En l'àrea CA3 de l'hipocamp s'han enregistrat les següents dimensions de mitjana per les espines d'aquestes cèl·lules piramidals : $0.22 \mu\text{m}$ d'amplitud del coll, $0.42 \mu\text{m}$ de llargària del coll de l'espina i una superfície del cap de l'espina de $0.72 \mu\text{m}^2$ (Turner i Schwartzkroin, 1983). Per altra banda, no s'han observat variacions sistemàtiques en la mida de les espines ni en relació a la distància del soma ni entre apicals i basals, sinó que hi ha una considerable no uniformitat, fins i tot entre espines adjacents o molt properes. El significat funcional de les diferents dimensions s'està debatent i encara no és conegut. Malgrat tot, ja que les espines poden modificar el seu tamany i forma davant diferents estímuls, "l'estat d'activitat" d'una espina particular pot influenciar en la seva mida (Horner, 1993).

Les espines dendrítiques són estructures úniques que es poden distingir de la resta dels elements neuronals pels diversos trets que sembla ser en són característics. Així, les espines no presenten ni neurotúbuls ni neurofilaments, els quals es troben en les dendrites, però freqüentment contenen material granulós que li dóna una aparença característica al seu citoplasma i algunes vegades contenen petits gatims ('clusters') de ribosomes que podrien tenir un paper en la construcció i modificació sinàptica (Steward, 1983). Szentagothai et al (1966) consideraven l'absència de mitocondris com a característica de les espines, però no és un tret constant ja que les espines grans poden contenir-ne. Moltes espines tenen una estructura en cisternes o organel·les, anomenada aparell espinós (*spine apparatus*), i poden arribar a tenir-ne dos o tres. Aquestes característiques són molt útils per identificar en estudis

amb microscòpia electrònica.

La funció d'aquest aparell espinós, a hores d'ara, encara no és massa clara, si bé diversos autors han proposat que aquestes organel·les tindrien la missió de renovar tant les membranes com les proteïnes de les espines dendrítiques. Aquesta reposició serviria per proveir el material necessari per tal de dur a terme la divisió sinàptica (Horner, 1993).

5.1 FUNCIONS DE LES ESPINES DENDRÍTiques

La funció de les espines dendrítiques és, actualment, encara incerta, si bé està ben establert que l'espina dendrítica és una part essencial de la membrana postsinàptica de molts tipus neuronals del SNC. A les espines dendrítiques se'ls hi han atribuït diferents funcions, de les quals destaquen les següents:

1. Cajal va suggerir que la seva funció principal era incrementar l'àrea receptiva de les dendrites, possibilitant així un nombre més gran de contactes sinàptics. Malgrat tot, si bé és cert que proporcionen un alt grau de connectivitat, aquest únic fet no explicaria el perquè estan situades en les dendrites i no en els axons, ni perquè el citoplasma de les espines difereix del de les dendrites i conté un aparell espinal que per Gray (1982) és específic de les espines del cervell anterior dels mamífers.

2. Una estructura similar a l'aparell espinal s'ha localitzat en els segments inicials dels axons de les neurones piramidals. I en ambdós casos la cisterna de l'aparell està confluent amb el reticle endoplasmàtic llis, per tant, suggereix que està implicat en l'activitat sinàptica i el segrest d'ions (Peters et al., 1968). L'habilitat que mostra l'aparell espinal per segrestar els ions de calci ha fet que es proposés que les espines dendrítiques tinguin un paper en la regulació de la dinàmica dels ions de calci, la qual cosa contrasta amb les aproximacions més

tradicionals que s'han centrat en les seves propietats elèctriques (Zador et al., 1990).

3. Per altra part, ja que es pensa que en les espines tan sols es donen contactes excitatoris, mentre que en les sinapsis en els troncs dendrítics o en el soma poden ser inhibitoris o excitatoris, Gray (1982) postula un possible rol de les espines dendrítiques en la selecció dels axons durant l'ontogènesi. En aquest procés els axons inhibitoris que es dirigeixen a altres parts de la cèl·lula podrien passar molt a prop de les espines, les quals produirien un senyal recognoscible tan sols pels axons excitatòris. Malgrat tot, si les espines tenen unes sinapsis asimètriques excitatòries amb connexions extrínseques, les sinapsis secundàries amb terminals simètrics inhibitoris *en passant* amb aferències intrínseques, presents a vegades, possiblement proporcionen una interacció excitació-inhibició dins d'una única espina (Jones i Powell, 1969).

4. Hi ha d'haver una relació entre la funció i l'estructura neuronal. Les propietats elèctriques i geomètriques de les neurones determinen com els inputs sinàptics i els corrents generats endògenament són integrats i transformats en senyals transmesos a altres cèl·lules. Les propietats elèctriques de les espines són importants ja que s'ha observat que l'estimulació elèctrica produeix canvis en el volum de les espines, tant a llarg com a curt termini (Fifková i van Harrefeld, 1977). Les proteïnes contràctils que s'han localitzat en concentracions molt més altes en les espines que en qualsevol altra àrea neuronal (Cohen et al., 1985) poden possibilitar que es donin els canvis en la forma de les espines. Totes aquestes característiques contribueixen a la proposta que les espines dendrítiques estan relacionades amb les funcions superiors en els mamífers i, en concret, en l'aprenentatge i la memòria (Hamlyn, 1962).

5. Les espines dendrítiques han estat implicades en l'aprenentatge i la memòria pràcticament des que van ésser descobertes, ja que Cajal (1911), i Hebb (1949) més tard, ja

van postular que l'emmagatzemament de la memòria a llarg termini podria implicar canvis en la mida i el nombre de sinàpsis. Estudis més recents recolzen la implicació de les espines dendrítiques en els processos de formació de la memòria, i ja que en les espines dendrítiques si troben les sinàpsis, els principals implicats en els processos de memòria han estat els contactes sinàptics (Horner, 1993).

5.2 LA DENSITAT DE LES ESPINES DENDRÍTIQUES

La densitat de les espines dendrítiques no és la mateixa en tots els tipus neuronals ni en els diferents tipus de dendrites. Així, les neurones piramidals corticals són particularment molt riques en espines, en canvi, les neurones no piramidals en tenen relativament poques (Cajal, 1911). Per altra part, sembla que hi ha un acord entre tots els investigadors que hi ha una distribució diferencial de les espines dendrítiques en funció de les diferents parts de l'arbre dendrític, però no hi ha un acord pel que fa a on presenten una densitat més gran. En les dendrites apicals que sorgeixen de l'àpex del soma hi ha una zona inicial lliure d'espines (Westrum et al., 1964; Ruiz-Marcos et al., 1983), malgrat que en alguna ocasió s'hi han visualitzat espines molt petites (Valverde, 1967). Immediatament després d'aquesta zona lliure d'espines, hi ha un increment gradual del nombre en funció de la distància al cos neuronal. Aquest increment es dona en les neurones corticals (Westrum et al., 1964), en les neurones de Meynert (Chan-Palay et al., 1974) i en les neurones hipocampals (Westrum i Blackstad, 1962). Aquest increment exponencial també s'ha vist en l'escorça visual del ratolí (Valverde, 1967) i en les escorces parietal, motora i auditiva humanes (Marin-Padilla, 1967). La distribució de les espines en les cèl·lules piramidals hipocampals, estudiada amb la tècnica de Golgi, descriu una paràbola en funció de la distància al soma al llarg de les branques de

les dendrites apicals (Englich et al., 1974; Minkwitz, 1976). Aquesta distribució diferencial de les espines en tot el camp dendrític i dins d'un únic tipus de dendrita està relacionat amb l'extensió dels inputs aferents que la cèl·lula rep (Chan-Palay et al., 1974; Marin-Padilla i Stübitz, 1968). Per altra part, la densitat de les espines de les dendrites pot augmentar o decreixer en funció de la condició experimental. Tots aquells estudis que han associat aquests canvis amb l'experiència i/o amb les alteracions fisiològiques neuronals, han posat de manifest, de manera repetida, que les espines dendrítiques són un dels llocs on es dona la plasticitat sinàptica que podria estar implicada en els processos d'aprenentatge i memòria (Crick, 1982; Patel i Stewart, 1988).

5.3 LA PLASTICITAT DE LES ESPINES DENDRÍTIQUES

La plasticitat ha estat definida com la "capacitat de ser format o modulada"; altres autors han assenyalat que la neuroplasticitat demostra la capacitat de les cèl·lules pels canvis persistents o per l'adaptació. Pel que fa als mecanismes implicats en aquesta plasticitat, s'ha descartat l'existència d'un únic gran mecanisme i es postula que és fruit de nombrosos mecanismes (Carlin i Siekevitz, 1983). D'aquesta manera els canvis funcionals i morfològics deguts a modificacions en la resposta que es donen quan una via és estimulada per una activitat precedent, han estat proposats com a mecanismes subjacents a la plasticitat neuronal (Fifková i Van Harreveld, 1977).

Les espines dendrítiques poden canviar de mida, de forma, d'estructura interna i de nombre. Els canvis en la densitat de les espines són molt importants ja que, com ja s'ha dit, en les espines dendrítiques es donen la majoria de contactes sinàptics (i, per tant, formen part dels principals circuits elèctrics).

En moltes regions cerebrals s'ha pogut observar que hi ha plasticitat, de fet es pensa que aquesta plasticitat es donaria en tot el sistema nerviós central. Molts autors s'han centrat en l'hipocamp, donat que és una estructura que posseeix una remarcable capacitat pels canvis, tant funcionals com estructurals, la qual cosa ha fet que l'hipocamp sigui un dels models més adients per l'estudi de la plasticitat. Si tenim present que l'hipocamp ha estat implicat en nombrosos processos cognitius, tals com l'aprenentatge i la memòria (Olton et al., 1979), i que, sens dubte, els canvis estructurals influeixen en la fisiologia neuronal, no és estrany que s'hagi suggerit que els canvis morfològics observats en l'hipocamp tinguin conseqüències fisiològiques i, en darrer terme, conseqüències funcionals (Woolley et al., 1990).

Un altre exemple, de la plasticitat de les espines dendrítiques, el trobem en la potenciació a llarg termini consistent en l'increment prolongat de la resposta evocada sinàpticament després d'una estimulació repetida d'alta freqüència. Aquest fenomen ha estat descrit en diferents aferències de la formació hipocampal. La potenciació a llarg termini es diferencia d'altres mecanismes de facilitació sinàptica per la seva extraordinària durada, ja que un cop induïda es manté estable i/o persistent durant hores, dies i fins i tot setmanes. I sembla ser que no és deguda ni a alteracions en els axons del sistema aferent ni a alteracions en la cèl·lula diana postsinàptica, sinó que sembla implicar a les terminals, les sinàpsis o bé les espines dendrítiques com a locus de potenciació. L'extensa durada de la potenciació a llarg termini i la seva associació a canvis estructurals en l'espina (Fifkovà i Van Harreveld, 1977) ha fet que s'especulés que pogués representar un tipus anatòmic de canvi, és a dir, podria ser que representés un canvi quasi-permanent en el complex sinàptic (en el terminal, la sinapsi o l'espina).

Les espines dendrítiques semblen ser sensibles a fenòmens que es donen de manera natural, així com també són a condicions induïdes experimentalment (Horner, 1993).

La densitat de les espines dendrítiques fluctua amb el pas del temps des del període embrionari fins a la vellesa. El desenvolupament i la maduració del sistema nerviós es veuen afectats per les hormones i, en concret, com ja s'ha dit, per les gonadals i les tiroïdals. Les fluctuacions fisiològiques d'aquestes hormones es veuen reflectides en canvis en la densitat de les espines dendrítiques (vegeu una explicació més detallada en el següent capítol). Altres condicions que succeeixen de manera natural, tals com l'eixivernada o els canvis de temperatura, provoquen canvis concurrents en la funcionalitat sinàptica alterant l'estructura en l'espina dendrítica i la densitat dendrítica. Per tant, sembla com si la densitat d'espines dendrítiques reflectís l'estat funcional de les neurones (Horner, 1993).

5.3.1 Plasticitat induïda experimentalment

En condicions experimentals també s'ha observat aquesta plasticitat de les espines dendrítiques. Han estat molts els treballs duts a terme per tal de verificar aquesta plasticitat a partir de variacions de la informació sensorial. D'aquesta manera s'ha observat que tant la morfologia com la densitat de les espines de l'escorça cerebral varien en funció de les condicions ambientals, donat que els sistemes sensorials dels animals són sensibles a les manipulacions experimentals. En aquest tipus de treball, tant s'han emprat tècniques invasives (tals com l'estimulació elèctrica de les vies o la desafereciació) com tècniques no invasives (variant el grau d'estimulació a partir de canvis en l'ambient habitual de l'animal), i els podem classificar en dos grans grups: aquells que han estimulat les vies sensibles i aquells que han realitzat una privació sensorial.

5.3.1.1 Privació

La privació sensorial provoca una pèrdua de les espines dendrítiques, tal i com es desprèn dels treballs que han avaluat els efectes de la privació sobre les espines dendrítiques. D'aquesta manera se sap que quan es destrueixen els terminals sinàptics que arriben a elles, mitjançant diferents tècniques de desafereciació, les espines dendrítiques desapareixen. La majoria d'aquests treballs s'han centrat en les neurones piramidals corticals i no només fan referència al nombre d'espines, sino que també s'han trobat canvis en la grandària, tant de l'amplitud de l'espina com de la llargària de la tija (Benshalom, 1989). Aquesta pèrdua d'espines dendrítiques que s'observa com a conseqüència de la denervació, s'ha trobat tant en animals adults com en animals immadurs.

Ruygo et al. (1975) van estudiar quins eren els canvis que es donaven en un sistema sensorial quan es provocava una desafereciació en un altre sistema sensorial. Els autors van observar que després d'una enucleació no hi havien canvis en la densitat d'espines en l'escorça sensorial somàtica i que, en canvi, es constata una pèrdua en el nombre d'espines de les dendrites apicals de l'escorça visual. A més a més, després de l'extirpació del *vibrissae*, no es van observar canvis en l'escorça visual però sí que es va detectar un decrement en el nombre d'espines en l'escorça somatosensorial. Tot això suggereix que la pèrdua d'espines que es dona després de la desafereciació queda restringida a l'àrea cortical de la modalitat sensorial afectada (Horner, 1993).

La denervació d'algunes neurones pot dur-nos a una degeneració progressiva, comportant la mort neuronal, o bé en alguns casos poden donar-se nous creixements compensatoris amb una proliferació axonal. Que aquesta proliferació es doni o no depèn de factors tan diversos com l'edat neuronal, el tipus i la localització de les neurones i de si la

desaferenciació ha estat parcial o completa. Aquest plantejament es veu confirmat amb treballs que han utilitzat l'hipocamp de l'animal adult per tal d'avaluar si les terminals que no estan afectades poden donar aquesta resposta de creixement (brotar) (*sprouting*). Un exemple el trobem en el treball de Lee et al. (1977) que, després de dur a terme l'extirpació de l'escorça entorrinal, observen la pèrdua d'un 90% de terminacions en el mig de la capa molecular, però, al cap de 5-6 dies de la intervenció, les terminals i les sinàpsis s'han recuperat de tal manera que al cap de 5 dies que el 'brotament' hagi començat, el 20 % de la densitat dels botons sinàptics normals s'ha recuperat. Sembla ser que aquestes recuperacions provenen de branques que són emeses pels axons intactes que es troben situats en les zones més baixes dels arbres dendrítics (Lynch et al., 1977). Si bé és cert que la resposta de brotament és més forta en els animals més joves, aquests treballs posen de manifest que el cervell adult manté l'habilitat d'augmentar el nombre i la distribució dels contactes sinàptics que es formen a partir d'aferències específiques i que aquests circuits que es formen d'aquesta manera són funcionals. Aquesta sinaptogènesi reactiva a partir del brotament s'ha posat de manifest en l'hipocamp, el septum, el sistema visual i el cervellet. De tal manera que després d'una desaferenciació parcial, algunes de les aferències disponibles poden establir contactes sinàptics en les neurones denervades. Malgrat tot, a hores d'ara encara es segueix qüestionant si aquests contactes, que són funcionals, són reutilitzats o no (Horner, 1993).

Un dels sistemes sensorials més estudiats ha estat el visual. Els animals criats en absència de llum presenten alteracions en el nombre d'espines en l'escorça visual (Valverde, 1967), en canvi, la cria en condicions enriquides provoca un augment de la densitat espinal.

Altres condicions experimentals que provoquen canvis en les espines dendrítiques són la malnutrició i l'hipòxia.

Pel que fa a la malnutrició, se sap que tant en les cèl·lules de PurKinje com en les granulars provoca un decrement dels contactes sinàptics. Aquest decrement també s'ha observat en les cèl·lules piramidals de l'escorça cingulada de les rates joves i les adultes que alhora mostren un canvi en les proporcions dels diferents tipus d'espines (primes, rabassudes i en forma de fong) respecte als animals de control (Schinheit i Haensal, 1984).

Com ja s'ha dit, les espines dendrítiques contribueixen a augmentar l'àrea disponible perquè es donin els contactes sinàptics i la densitat d'espines dendrítiques ha estat associada amb funcions d'aprenentatge i memòria, alhora que amb l'edat, ja ho hem vist, aquesta densitat espinal decreix. S'ha observat que una dieta crònica rica en colina augmenta la densitat d'espines dendrítiques en cèl·lules neocorticals quan es comparen amb els animals de control, però tant la dieta rica en colina i la rica en lecitina com la dieta deficient en colina no tenen cap efecte sobre la densitat d'espines dendrítiques de les cèl·lules piramidals hipocàmiques (Muma i Rowell, 1988). Aquestes dades ens indicarien que els complements dietètics poden tenir efectes diferenciats en funció de la regió cerebral, i que les millores en aprenentatge i memòria observades en els animals d'edat avançada ('vells') que han rebut dietes riques en lecitina i/o colina no són degudes a un augment de la densitat d'espines dendrítiques hipocàmiques.

Els efectes de l'hipòxia postnatal sobre les espines dendrítiques han estat estudiats sobretot en l'hipocamp. De manera que en l'animal adult es constata un decrement en la densitat d'espines i en el nombre de ramificacions, així com s'observen canvis en la forma de les espines en el camp CA1 hipocàmpic (Pokorny i Trojan, 1983).

5.3.1.2 Estimulació

Els estudis que han emparat tècniques d'estimulació per tal d'observar el seu efecte sobre la morfologia neuronal, i més concretament sobre les espines dendrítiques, o bé han utilitzat ambients enriquits o bé s'han centrat en la potenciació a llarg termini.

Les condicions d'estimulació ambiental són de gran importància ja que, en rates, tant l'anatomia cerebral com la neuroquímica i la conducta poden variar en funció de si els animals han estat criats en ambients enriquits o empobrits. Les condicions d'un ambient enriquit impliquen una àmplia varietat d'estimulacions de diferents modalitats sensorials (visuals, tàctils, cinestèsiques, auditives i olfactivas). La comanda que suposa la integració de tota aquesta informació multisensorial pot provocar un increment de les connexions intracorticals, que implicarà tant les ramificacions axonals, com l'aparició d'espines dendrítiques amb la subseqüent aparició de noves sinàpsis o l'augment de les ja existents (Horner, 1993).

D'entre els treballs realitzats destaquem el dut a terme per Horner et al. (1991), ja que es va centrar en l'hipocamp. Aquests autors observen un augment de la densitat d'espines dendrítiques en les dendrites basals de les cèl·lules piramidals de la regió CA1 hipocàmiques en aquells animals que han estat manipulats i injectats diàriament quan es comparen amb els animals de control. Aquest increment, però, no es produïa en les ramificacions apicals de les mateixes neurones. Aquest treball confirmava els resultats obtinguts anys abans per Globus et al. (1973), que van observar un augment, sobretot en les dendrites basals, de la densitat d'espines en neurones piramidals corticals en aquells animals que havien estat criats en un ambient enriquit respecte aquells que eren criats en aïllament.

5.3.2 Plasticitat en condicions patològiques

Moltes malalties com les demències senils (Scheibel et al., 1975) i, en concret, la malaltia d'Alzheimer (El Hachimi & Foncin, 1990), les epilèpsies dels lobuls temporals (Scheibel et al., 1974), estats de retard mental associats a anomalies cromosòmiques congènites (Purpura, 1974) i l'hipotiroïdisme (Ruiz Marcos et al., 1982), provoquen variacions en la densitat i/o morfologia de les espines dendrítiques.

El consum crònic d'etanol provoca canvis en la densitat i l'estructura de les espines dendrítiques, alhora que se sap que l'etanol produeix canvis degeneratius en el cervell. L'efecte del consum d'etanol sobre la formació hipocampal ha estat àmpliament estudiada i, a vegades, els resultats es contradiuen.

En estudis duts a terme amb rates i ratolins s'ha posat de manifest que el consum crònic d'etanol causa un decrement de la densitat d'espines dendrítiques en la formació hipocampal (Walker et al., 1981). Aquest decrement és més accentuat en les neurones piramidals de la regió CA1 que no pas en les cèl·lules granulars del gir dentat (Riley i Walker, 1978). Aquest decrement s'ha associat als processos degeneratius que l'etanol provoca en les neurones, ja sigui en les pròpies neurones afectades o bé a la degeneració transsinàptica com a conseqüència de la pèrdua d'aferències. Altres autors que han observat un augment de la densitat d'espines en l'arbre basal en la regió CA1, després d'un tractament crònic d'etanol de curta durada, atribueixen aquest increment a una resposta compensatòria a la degeneració neuronal (Kunz et al., 1976). Malgrat tot, King et al. (1988), observen un decrement de la densitat d'espines en les neurones piramidals del CA1 i un augment del nombre d'espines en les cèl·lules granulars del gir dentat després de 20 setmanes de tractament. A més a més, després de 20 setmanes d'abstinència, la densitat d'espines

dendrítiques en les dues poblacions neuronals retorna als nivells dels de control.

Una altra dada important és l'aportada per Lescaudron et al. (1989), els quals assenyalen que les neurones piramidals CA1 de l'hipocamp posterior són més sensibles al tractament crònic amb etanol que les de l'hipocamp anterior. Hi han autors que es mostren totalment en desacord amb aquests augments o disminucions en les neurones piramidals hipocàmiques, ja que no troben cap diferència ni en el nombre ni en la forma de les espines dendrítiques (Lee et al., 1981).

Altres drogues com els esteroides, l'haloperidol o l'àcid kainic també provoquen canvis en la densitat d'espines dendrítiques. En canvi, altres fàrmacs, com els antidepressius tricíclics, no provoquen canvis significatius en la densitat d'espines de les cèl·lules piramidals de la regió CA1 quan es comparen amb els de control (Horner et al., 1991).

Així doncs, i com a resum, la plasticitat de les espines davant de diverses condicions experimentals i naturals suggereix que l'espina dendrítica és una estructura important en el funcionament global del SNC i en la seva resposta a diversos fenòmens (Horner, 1993). I atribuir-li una única funció és quelcom difícil si considera que les espines mostren una plasticitat tant a curt (potenciació a llarg termini) com a llarg termini (malalties, condicions ambientals).

6. LA FORMACIÓ HIPOCAMPAL I LES HORMONES TIROÏDALS : ALTERACIONS MORFOLÒGIQUES INDUÏDES PER LES HORMONES TIROÏDALS

La formació hipocampal és sensible a moltes hormones ja que en ella s'hi expressen receptors per les hormones tiroïdals, pels glucocorticoïdes, pels mineralocorticoïdes i pels esteroïdes gonadals. D'entre ells cal ressaltar que, en la rata, l'hipocamp és la regió cerebral que conté un major nombre de receptors tiroïdals (Puymirat, 1992).

A continuació s'exposen els treballs que han avaluat quines són les alteracions morfològiques induïdes per les hormones tiroïdals en la formació hipocampal, diferenciant-los en funció del període d'afectació. I, una altra vegada, ens trobem amb el fet que són molts més els treballs que s'han realitzat amb animals joves, amb el cervell immadur, que no pas els realitzats amb animals adults.

6.1 LA FORMACIÓ HIPOCAMPAL I LES HORMONES TIROÏDALS DURANT EL DESENVOLUPAMENT

Com ja s'ha dit, calen nivells normals d'hormones tiroïdals durant el desenvolupament per tal que el cervell adult tingui un bon funcionament, ja que la manca o l'excés d'aquestes hormones provoca importants alteracions en la conducta, la fisiologia i la morfologia neuronal. Els estudis duts a terme per estudiar les alteracions morfològiques que els desequilibris de les hormones tiroïdals provoquen en la formació hipocampal són minoritaris

respecte als duts a terme en l'escorça cerebral (Eayrs, 1955; Ruiz Marcos et al. diverses cites) o el cerebel (Legrand et al, mirar cites). Malgrat tot hi han dades prou clares que ens indiquen que la manca perinatal d'hormones tiroïdals provoca un decrement tant en el pes com en el volum de la formació hipocampal que sembla ser permanent, ja que se segueix detectant quan els animals tenen cinc mesos d'edat i han estat recuperats de l'hipotiroïdisme perinatal (Rabié et al., 1979). Per altra banda, s'ha posat de manifest que la manca d'hormones tiroïdals provoca reduccions en el volum de la capa granular del gir dentat, així com de la densitat numèrica i del nombre total de neurones respecte als animals de control en edats inferiors als trenta dies (Rami et al, 1986a; Madeira et al., 1988b), que no es recupera malgrat que el nivell de les hormones tiroïdals es normalitzi (Madeira et al., 1988b), tot i que no s'han observat canvis en les cèl·lules granulars quan els animals han estat tractats neonatalment amb tiroxina (Gould et al., 1990c). L'arborització del seu arbre dendrític també es veu reduïda quan es compara amb els de controls, si bé aquesta reducció es veu compensada després de rebre tiroxina durant dos dies (Rami et al., 1986b). En aquest sentit, un excés d'hormones tiroïdals neonatals provoca un augment del nombre dels seus axons, les fibres molsoses (Lauder i Mugnaini, 1980).

6.1.1 Alteracions morfològiques de les neurones piramidals hipocàmiques

Les neurones piramidals hipocàmiques, malgrat neixen en el període embrionari, realitzen la seva maduració morfològica en un període relativament tardà del desenvolupament, ja que no es porta a terme fins la segona o tercera setmana de vida postnatal (Gould et al., 1991), detectant-se una gradació en la maduració, de tal manera que les neurones del CA1 duen a terme el seu remodelament dendrític abans que les de la regió

CA3 (Rami et al. 1986b). És potser, per això, que s'han trobat resultats diferents en quan a l'efecte de les hormones tiroïdals en funció de la regió hipocàmica analitzada.

La manca d'hormones tiroïdals des del naixement fins als 30 dies d'edat provoca una reducció del volum de la capa piramidal de la regió CA3 amb un increment paral·lel de la densitat numèrica de les seves neurones, ja que no es dona un decrement pel que fa al nombre total de cèl·lules piramidals (Madeira et al., 1992). Aquest fenomen també s'observa quan l'estat hipotiroideo és mantingut fins als 180 dies d'edat, si bé no és tan accentuat. Pel que fa a la regió CA1, la manca d'hormones tiroïdals, durant el mateix període d'afectació, causa un decrement del nombre total de cèl·lules piramidals (Madeira et al., 1992).

Un excés d'hormones tiroïdals en el període neonatal provoca que les neurones de la regió CA3 tinguin uns arbres dendrítics més complexos quan s'avaluen en l'animal adult (Gould et al., 1990c) i, en canvi, la manca d'hormones tiroïdals fa que aquestes neurones piramidals tinguin els arbres dendrítics atrofiats (Rami et al 1986b). Els treballs duts a terme en la regió CA1 ens indiquen que, si bé la manca d'hormones tiroïdals afecta la seva arborització dendrítica, aquesta afectació és menor que l'observada en el CA3 (Rami et al., 1986b), i que l'excés d'hormones tiroïdals neonatal no provoca canvis ni en la grandària del cos cel·lular, ni en el nombre de dendrites primàries, ni en el nombre de punts de ramificació dendrítica, ni en la longitud de les dendrites en la regió CA1 (Gould et al., 1990c). De tota manera, malgrat no alterar ni la grandària ni la forma, un excés d'hormones tiroïdals neonatal provoca un augment de les espines dendrítiques, tant de l'arbre basal com de l'apical de les neurones piramidals de CA1, quan l'animal és adult (Gould et al., 1990c).

6.2 LA FORMACIÓ HIPOCAMPAL I LES HORMONES TIROÏDALS EN EL CERVELL ADULT

Al contrari del que succeeix amb el sistema nerviós central quan s'està desenvolupant, hi ha una creença general que el cervell adult no és particularment sensible a les hormones tiroïdals. Malgrat tot, hi han estudis realitzats en l'escorça visual (Eayrs, 1961; Ruiz-Marcos et al., 1980,1988), auditiva (Ruiz-Marcos et al., 1983) i cervelosa (Paula- Barbosa et al., 1985), que han mostrat que, en estat d'hipotiroïdisme, el cervell adult porta a terme canvis estructurals idèntics, però no tan exuberants als observats durant el desenvolupament. De la mateixa manera hi han diversos estudis que posen de manifest que la formació hipocampal de l'animal adult és sensible a les hormones tiroïdals.

Els animals hipotiroïdes, mitjançant tiroïdectomia quirúrgica als trenta dies d'edat, tenen una formació hipocampal amb un pes menor que els animals de control quan és avaluada als 180 dies (Madeira et al., 1991). Una altra dada important, aportada pels mateixos autors, és que les cèl·lules granulars del gir dentat del cervell adult són sensibles a les hormones tiroïdals, en el sentit que s'observa una reducció en el nombre total de cèl·lules en un estat d'hipotiroïdisme que té lloc amb la conseqüent reducció en el volum de la capa granular i, per tant, les densitats numèriques i d'àrea (nombre de cèl·lules per unitat d'àrea) també es veuen reduïdes (Madeira et al., 1988). Així doncs, es pot dir que la manca d'hormones tiroïdals en el cervell adult té el mateix efecte sobre la morfologia de les cèl·lules del gir dentat que quan aquesta manca es dona en el període de desenvolupament, si bé quantitativament l'efecte és menor. Aquesta dada està en clara contraposició a les idees, àmpliament acceptades, exposades per Legrand, segons les quals l'hipotiroïdisme no interferiria al nombre total de cèl·lules del cervell adult, a diferència del que ocorre quan el

cervell s'està desenvolupant (Legrand, 1982; 1983).

6.2.1 Alteracions morfològiques de les neurones piramidals hipocàmiques

La manca d'hormones tiroïdals, des dels 30 dies d'edat, provoca, en el cervell adult, una reducció en el volum de la capa piramidal en la regió CA3, que va acompanyada d'un augment en la densitat numèrica de les seves neurones, sense que hi hagi, per tant, cap reducció en el nombre total de cèl·lules piramidals en aquesta regió hipocàmica (Madeira et al., 1992). En canvi, sí que s'observa una pèrdua del nombre total de cèl·lules en la regió CA1 sota el mateix protocol experimental (Madeira et al., 1992). Davant d'aquestes dades s'ha tornat a argumentar que l'efecte de les hormones tiroïdals en el cervell adult sembla ser el mateix que en el cervell immadur, però no tan accentuat.

Per altra banda, un excés d'hormones tiroïdals provoca una reducció del nombre d'espines dendrítiques de les dendrites apicals de les cèl·lules piramidals de la regió CA1, sense que s'observin canvis ni en les espines de les dendrites basals ni en la grandària del cos cel·lular (Gould et al., 1990a). Aquesta sensibilitat que mostren les neurones del CA1 davant d'un excés d'hormones tiroïdals, no la mostren les cèl·lules piramidals de la regió CA3, ja que cap d'aquests paràmetres es troba afectat pel tractament (Gould et al., 1990a).

7. LES HIPÒTESIS DE TREBALL

L'objectiu d'aquest treball és avaluar els efectes que les hormones tiroïdals tenen sobre la conducta i la morfologia neuronal. Per esbrinar el rol de les hormones tiroïdals en la conducta, vam optar per induir estats temporals de dèficit o excés d'aquestes hormones en els animals experimentals sense que aquests animals estiguessin sota unes condicions patològiques severes. La justificació d'aquesta decisió és prou clara: el nostre objectiu no és saber quina conducta manifesta un animal que presenta una determinada endocrinopatia. Vam haver de prendre altres decisions davant de fets i/o aspectes que es desprenien de les referències consultades. Les dades existents i els *posicionaments* adoptats són els següents:

- Les manipulacions de l'animal excessives, i sobretot les realitzades en períodes neonatals, poden afectar la conducta de l'animal adult.

Donat que el nostre objecte d'estudi és la conducta, i sense oblidar que teníem dos períodes d'afectació, vam decidir que l'alteració experimental de l'eix tiroïdal no havia d'implicar una manipulació excessiva dels nostres animals. És per això que vam optar per l'administració oral dels diferents tractaments. Aquesta elecció comportava un seguit de riscos, entre els quals volem destacar la validació d'aquest mètode com a inductor dels diferents estats de distiroïdisme que preteníem aconseguir. Malgrat tot ens semblava que era el mètode idoni per l'estudi dels efectes de les hormones tiroïdals sobre la conducta ja que implica la no manipulació de l'animal.

- Els efectes de les hormones tiroïdals, i de qualsevol hormona, no tenen perquè ser

els mateixos en el cervell immadur i en el cervell adult o ja desenvolupat.

És per això que vam optar per distingir els efectes en el cervell en desenvolupament i en el cervell madur. A tal fi en el nostre treball vam distingir dos períodes d'afectació: un període en el qual el cervell s'està desenvolupant i un altre en el qual el cervell ja està desenvolupat.

- Si es té present quins són els mecanismes d'acció biològics de les hormones tiroïdals, *els possibles efectes de les hormones tiroïdals sobre la conducta han d'ésser diversos i no tenen perquè estar focalitzats en processos concrets tals com l'aprenentatge.*

Com ja s'ha indicat, el volum de treballs existents sobre el paper de les hormones tiroïdals en la conducta se centra en l'aprenentatge o en els reflexos. El nostre parer fou que si volíem determinar el rol de les hormones tiroïdals en la conducta calia que l'avaluació conductual que es realitzés fos àmplia ja que aquestes hormones incideixen directament sobre l'expressió gènica. Per altra part, dades que provenien de la clínica relacionaven patologies tals com l'ansietat i la depressió amb els nivells d'hormones tiroïdals. És per tot això que vam decidir que la nostra avaluació conductual es portés a terme mitjançant una àmplia bateria de proves conductuals.

- *Cal tenir presents els possibles mecanismes neurals implicats en els efectes conductuals de les hormones tiroïdals.*

No ens podíem oblidar del substrat neural subjacent a les alteracions conductuals esperades com a conseqüència de la manipulació endocrina. Els arguments que ens portaren

a l'elecció de l'hipocamp com a estructura a avaluar en el nostre treball són diversos. En primer lloc, l'hipocamp ha estat implicat en totes aquelles conductes que nosaltres avaluàvem amb la nostra bateria de proves conductuals, des de l'emocionabilitat i l'exploració fins a l'aprenentatge. Però amb aquestes dades no en teníem prou, ja que necessitàvem una estructura que fos molt sensible a l'acció de les hormones tiroïdals, i, quan nosaltres vam iniciar aquest treball, les dues grans estructures en les quals s'havia demostrat que hi havia una alta sensibilitat per les hormones tiroïdals eren l'escorça i el cervellet (tal i com es despenia de les diverses referències consultades). Per altra part, l'hipocamp sempre ha estat un dels millors models per estudiar els fenòmens de plasticitat neural, la qual cosa era un factor de pes a l'hora de delimitar la nostra elecció. Els arguments a favor de l'hipocamp eren la seva implicació en les conductes que volíem avaluar i el fet que era una estructura idònia per l'estudi de la plasticitat. Davant d'aquests fets no podíem descartar l'hipocamp, però calia que aquesta estructura fos molt sensible a l'acció de les hormones tiroïdals. Hi havien altres dades que mostraven que el tractament amb tiroxina alterava la distribució de les fibres molsoses infrapiramidals (Lauder i Mugnaini, 1977), a més els treballs realitzats per veure l'efecte de les hormones tiroïdals en el desenvolupament de l'hipocamp portats a terme pels deixebles de Legrand (Rabié et al., 1979; Rami et al., 1986 a i b) ens feien sospitar que aquest podia ser una estructura molt sensible a l'acció de les hormones tiroïdals. Finalment, els treballs realitzats en diversos tipus d'escorça per Ruiz-Marcos i col·laboradors (1982; 1983 i 1988) posen de manifest la sensibilitat que mostren les neurones piramidals corticals a les hormones tiroïdals. D'aquesta manera, vam optar per l'estudi de la morfologia de les cèl·lules piramidals hipocàmiques.

Pocs anys més tard, s'observava que una de les zones del cervell adult més riques en

Les Hipòtesis

receptors T₃, en la rata, eren l'hipocamp i el gir dentat (Puymirat, 1992) i també apareixien altres treballs que, de nou, destacaven que la morfologia cel·lular de les neurones hipocàmiques era sensible a l'acció de les hormones tiroïdals (Gould et al., 1990 a i c; Gould et al., 1991). Altres estudis, com s'ha vist en l'apartat corresponent, han posat de manifest que l'hipocamp i el gir dentat són unes estructures molt sensibles a l'acció de les hormones tiroïdals.

Totes aquestes dades han fet que els nostres objectius anessin creixent, però sempre dins d'aquests quatre blocs i sense oblidar que el nostre objecte d'estudi és la conducta.

Concretament els nostres *propòsits* són :

A. Validar el mètode emprat per induir els estats de distiroïdisme, tant en període perinatal com en l'edat adulta.

B. Avaluar els efectes de les hormones tiroïdals, tant en el període perinatal com en l'edat adulta, sobre un ampli ventall de pautes conductuals que fan referència a aspectes més intrínsecs dels subjectes tals com l'activitat, l'exploració, la necessitat de canvi d'estimulació, la reactivitat emocional, la capacitat d'aprenentatge,...

C. Avaluar els efectes que les hormones tiroïdals tenen sobre la morfologia cel·lular d'una estructura cerebral, implicada en aquelles conductes que hem avaluat prèviament, com és l'hipocamp, tant en el període perinatal com en l'edat adulta.

A partir de tots aquests objectius concrets pretenem establir una possible explicació de quin és el rol de les hormones tiroïdals en la conducta, sense oblidar el substrat neural i els mecanismes subjacents.

Per cadascun d'aquests propòsits han estat elaborades unes *hipòtesis*:

A. Si el mètode d'inducció al distiroïdisme és efectiu,

Hipòtesi A.1 Els nivells d'hormones tiroïdals dels subjectes avaluats al final del tractament perinatal estaran afectats pel tractament seguit durant aquest període.

Hipòtesi A.2 Els nivells d'hormones tiroïdals no estaran afectats pel tractament perinatal, quan aquests s'avaluïn en l'animal adult donat que la inducció química del distiroïdisme és reversible.

Hipòtesi A.3 Els nivells d'hormones tiroïdals dels subjectes avaluats al final del tractament en edat adulta estaran afectats.

B.1: Donat que durant el període perinatal que hem escollit com a període de tractament coincideix amb el desenvolupament ontogenètic de gran part del SNC, és d'esperar que aquelles estructures cerebrals que presenten receptors específics per a les hormones tiroïdals quedin alterades, de manera que aquelles conductes relacionades amb aquestes estructures quedaran afectades.

Hipòtesi B.1.1 Concretament, les alteracions de les hormones tiroïdals provocarà dèficits en les variables relacionades amb les característiques intrínseques dels subjectes com són l'emoció, l'activitat i la capacitat d'aprenentatge.

Hipòtesi B.1.2 Ja que els dèficits dels substrats biològics són més greus que els excessos, cal esperar que el dèficit d'hormones tiroïdals tingui efectes més severos que l'excés.

B.2: Donat que les alteracions tiroïdals induïdes en l'edat adulta es realitzen sobre el cervell madur que s'ha desenvolupat correctament, cal esperar que la manipulació endocrina modifiqui el "funcionalisme" d'aquelles estructures cerebrals que expressen receptors per les hormones tiroïdals.

Hipòtesi B.2.1 Aquestes modificacions funcionals, degudes al distiroïdisme, es veuran reflectides en aquelles conductes que avaluin aquelles condicions del subjecte més variables, com és l'emocionalitat.

Hipòtesi B.2.2 El dèficit d'hormones tiroïdals en l'animal adult provocarà una disminució en la capacitat de resposta del sistema nerviós que es veurà reflectit en una baixa emocionalitat en el subjecte, mentre que l'excés d'hormones tiroïdals en l'animal adult provocarà una acceleració del funcionalisme que es veurà reflectit en una alta emocionalitat en el subjecte.

B.3. Si els efectes de les hormones tiroïdals durant el període perinatal són diferents als efectes de les hormones tiroïdals en l'organisme madur,

Hipòtesi B.3 Els efectes provocats pel tractament perinatal no afectaran els efectes provocats pel tractament en edat adulta.

C.1. Si l'alteració tiroïdal induïda en el període perinatal altera l'ontogènesi d'aquelles estructures cerebrals que presenten receptors específics per a les hormones tiroïdals, com és l'hipocamp, provocant canvis en la morfologia neuronal.

Hipòtesi C.1 El dèficit d'aquestes hormones provocarà que les neurones estiguin poc desenvolupades morfològicament, mentre que un excés d'hormones tiroïdals provocarà una acceleració en el desenvolupament morfològic de les neurones.

C.2. Si el plantejament formulat en l'apartat B.2 es compleix, és a dir, les alteracions tiroïdals induïdes en el cervell madur afecten la funcionalitat d'aquelles estructures que són sensibles a l'acció d'aquestes hormones, cal esperar que el distiroïdisme en

edat adulta afecti aquells paràmetres morfològics més relacionats amb l'estat funcional de la neurona.

Hipòtesi C.2 L'excés d'hormones tiroïdals en edat adulta provoqui un augment en la densitat d'espines dendrítiques, mentre que el dèficit provocarà una disminució.

C.3. D'acord amb el plantejament anteriorment exposat, segons el qual l'acció de les hormones tiroïdals en el període perinatal seria de tipus "morfològic", mentre que el tractament en el període adult seria de tipus funcional

Hipòtesi C.3.1 La morfologia neuronal avaluada en l'animal adult reflectirà els efectes deguts al tractament en el període perinatal i els deguts al tractament en l'edat adulta.

PART EXPERIMENTAL

1. PROCEDIMENT

1.1 SUBJECTES

Els subjectes experimentals són 98 mascles de la soca Wistar que són avaluats conductualment, endocrinològicament i histològicament. Per altra banda, hi ha 18 mascles de 21 dies d'edat que pertanyen als grups que anomenem **grups de control endocrí i histològic**.

Per obtenir aquests subjectes s'han aparellat els animals progenitors, separant el mascle a les 48 hores. Als 8 dies d'edat de les cries, s'igualen les ventrades a 10 deixant sempre el major nombre possible de mascles. Quan es deslleten les cries, els mascles es pesen i es col·loquen en gàbies de tres animals fins als 65 dies d'edat, que són aïllats. Els animals resten en gàbies individuals fins al final de la fase experimental. Després del deslletament els subjectes experimentals tenen lliure accés al menjar i l'aigua i sempre estan sota un règim de llum-fosc de 12 hores (8.00 h - 20.00 h) i amb la temperatura i l'humitat constants ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}C$ i 60 %). El pes dels animals es controla cada deu dies fins que s'inicien les proves conductuals.

2.2 TRACTAMENTS

2.1.1 Alteracions realitzades de l'eix tiroïdal

La manipulació de l'eix tiroïdal dels animals es realitza segons dues variables. Una és el període d'afectació i l'altra és el tipus d'afectació que estem realitzant. Segons el període d'afectació distingirem dos tractaments:

Procediment

- Tractament en el període perinatal: El dia 9 de gestació (es considera dia 0 el dia en el qual s'aparella el mascle amb la femella) es comença el tractament prenatal, que consisteix en l'administració d'hormona tiroïdal o del fàrmac antitiroïdal (methimazole) a través de la beguda de la mare gestant. Aquesta manipulació continua en el període postnatal a través de la llet materna i durant les tres setmanes que dura l'alletament de les cries, és a dir, finalitza el dia 20 postnatal dels subjectes experimentals. Aquest període d'afectació coincideix amb l'època de màxima incidència de les hormones tiroïdals sobre l'expressió gènica (Bernal, 1990).

- Tractament en l'edat adulta: Aquest tractament comença als 65 dies d'edat de les rates i finalitza en el moment que les rates són sacrificades, entre els 87 i 90 dies d'edat, ja sigui per decapitació o mitjançant perfusió vascular. El tractament en l'edat adulta s'inicia dues setmanes abans que les rates realitzin la bateria de proves conductuals.

Tenint en compte el tipus d'afectació que volem fer sobre l'eix tiroïdal ens trobem amb tres possibles tractaments, que són:

- Tractament amb l-Tiroxina: La raó d'aquest tractament la trobem en el fet que amb l'administració d'aquesta iodotironina aconseguim un excés d'hormones tiroïdals en l'organisme receptor.

- Tractament amb fàrmac antitiroïdal: El tractament amb goitrògens té com a objectiu aconseguir bloquejar l'acció biològica de la glàndula tiroïdal, ja sigui impedit l'alliberació dels seus productes de secreció o evitant la síntesi de les hormones tiroïdals (Todd, 1986).

- Tractament de control: La finalitat d'aquest tractament no és altre que la d'assegurar que els canvis observats en els subjectes siguin deguts a la manipulació de l'eix tiroïdal.

Així doncs, en funció dels tres tractaments i de les dues èpoques d'inici d'aquests,

obtindrem les possibles manipulacions experimentals que els nostres subjectes han seguit. Això ha donat lloc a l'aparició dels nou grups experimentals, tal i com es pot veure en la següent taula:

		EDAT ADULTA		
TRACTAMENT		TIROXINA (T)	F.ANTIROÏDAL (M)	CONTROL (C)
PERI	TIROXINA (T)	TT n = 12	TM n = 13	TC n = 11
NATAL	ANTITIROÏDAL (M)	MT n = 12	MM n = 10	MC n = 10
MENT	CONTROL (C)	CT n = 10	CM n = 10	CC n = 10

Els subjectes experimentals són assignats a un o altre tractament, ja sigui en el període perinatal o en la vida adulta, de manera aleatòria, alhora que l'assignació del tractament durant la vida adulta es porta a terme independentment del tractament perinatal. A més a més, s'ha emprat un disseny doble-cec fins al final de tota la fase experimental.

La distribució dels animals dels grups de control endocrí i histològic (aquells que segueixen el tractament en el període perinatal i que quan són deslletats al final d'aquest tractament són sacrificats per tal de dur a terme l'avaluació endocrina i l'avaluació morfomètrica) es pot veure reflectida en el següent quadre:

Procediment

TRACTAMENT PERINATAL	CONTROL (C)	F.ANTITIROÏDAL (M)	TIROXINA (T)
Grup	C21	M21	T21
Subjectes	5	3	10

2.2.2 Inducció química del distiroïdisme

La tiroïdectomia química implica la supressió de la producció i alliberació de les hormones tiroïdals. Per mecanismes de control clàssics de *feedback* sobre l'hipotàlem i la hipòfisi, els goitrògens provoquen un augment de la secreció de l'Hormona Estimulant de la Tiroïdes (TSH), i és aquest factor hipofisari, com ja s'ha dit, el que té un control directe sobre la funcionalitat de la glàndula tiroïdal.

El methimazole, una droga antitiroïdal de la família de les tiourelines, bloqueja el *binding* del iodur amb la tiroxina i l'acoblament de les iodotironines per formar T_4 i T_3 (Capen i Martin, 1989). Alguns autors adverteixen que el seu ús provoca una hipersecreció crònica de TSH, fet que comporta un elevat risc de desenvolupament de tumors tiroïdals (Todd 1986; Capen i Martin, 1989). Aquest producte químic, el methimazole, té alguns avantatges sobre el propiltiouracil (PTU) emprat clàssicament com a goitrògen: el methimazole no interfereix l'activitat deiodinassa dels teixits perifèrics (van Doorn et al, 1983), tampoc té el gust amarg del PTU i el poder goitrogènic és el mateix.

Si bé és conegut que el methimazole és una substància que travessa la placenta ràpidament, amb una mitjana de sang materna/sang fetal propera a 1.0 (Marchant et al., 1977) i que s'incorpora a la llet materna (Johansen et al., 1982), el rol de la tiroxina

administrada durant l'embaràs no està tan clar. Malgrat tot, s'ha observat que, en rates, les hormones tiroïdals travessen la placenta tant abans (entre els dies 10 i 17 de gestació) com després que es doni la secreció d'hormones tiroïdals fetals (Obregón et al, 1984; Morreale de Escobar, et al., 1988).

2.2.3 Administració dels tractaments: Via oral

L'administració dels diferents tractaments que els nostres animals segueixen es fa per via oral. Aquest requisit ens va semblar imprescindible tenint en compte quin era l'objectiu principal d'aquest treball. Per altra part, l'administració d'ambdues substàncies a través de la beguda fa molt més fàcil mesurar el volum consumit que no pas si aquesta es fa mitjançant el menjar. Per contra, l'administració intraperitoneal o subcutània, ja sigui del fàrmac antitiroïdal o de l'hormona, suposa una manipulació "extrema" dels subjectes, sobretot en el període perinatal, ja que és d'una periodicitat diària.

2.2.4 Obtenció de les diferents sol·lucions:

Ja que la tiroxina és oxidada per la llum, cal que les ampolles que continguin aquesta iodotironina siguin pintades amb pintura negra opaca. Així doncs, totes les ampolles han d'ésser pintades per controlar una possible variable estranya.

La possibilitat d'administrar la tiroxina i el methimazole mitjançant la beguda fa que l'animal tingui accés lliure i voluntari a ambdues substàncies. Segons la bibliografia específica, els animals en condicions estàndard beuen aproximadament 10 ml / dia per cada 100 grams de pes corporal. Aquesta quantitat s'ha de veure augmentada en el tractament amb l-T₄ i disminuïda en el cas del methimazole (Comer i Norton, 1982). És a partir d'aquestes quantitats que es van preveure les diferents concentracions de cada dissolució.

Procediment

El tractament de tiroxina suposa que a l'animal se li subministra durant el període esmentat, sigui en l'edat adulta o en el període perinatal, una solució de l-T₄ amb una concentració de 30 µgr /10 ml. Per preparar aquesta solució s'ha seguit el mateix protocol que va seguir Roser Iglesias en la seva tesi doctoral (Iglesias, 1983). En síntesi consisteix en preparar alíquotes que continguin 600 µgr T₄ / 600 µl, que es conserven a -30° per tal d'evitar la seva desiodització. Quan s'han de preparar les solucions, es descongelen les alíquotes i es porten els 600 µl a un volum de 200 ml amb aigua. Aquesta solució final és la que es dona a l'animal com a beguda *ad libitum*.

Les solucions de methimazole són preparades de manera semblant. Es dissolen 10 gr de methimazole en 100 ml d'aigua destil·lada. D'aquesta dissolució es fan vials de 400 µl, de tal manera que cadascun d'ells contindrà 40 mgr de methimazole. Aquests vials són guardats en el congelador (-30°) i, per preparar les solucions que les rates han de beure, són descongelats i aquests 400 µl es porten a un volum de 200 ml, essent la concentració final de 0.2 mgr / ml.

Els subjectes del grups de control reben aigua en una ampolla negra durant el mateix període que els subjectes dels grups experimentals.

Tant la l-Tiroxina, que s'ha emprat, com el methimazole s'han obtingut de Sigma Chemical Co. (núm. cat. T-2376 i M-8506, respectivament).

Durant tot el període de gestació i alletament es controla el consum de beguda per la mare i les cries. També es registra el consum de beguda durant tot el període de manipulació experimental.

1.3 AVALUACIÓ PSICOMOTRIU

L'avaluació psicomotriu es realitza el matí abans de començar l'avaluació conductual. L'objectiu d'aquesta avaluació és la verificació de l'estat psicomotriu del subjecte, ja que la majoria de conductes varien en funció de l'estat sensomotriu (Adams, **). Aquesta avaluació es fa més necessària davant la manipulació endocrina a la qual són sotmesos els subjectes experimentals.

L'avaluació de la psicomotricitat (maduració psicomotriu) dels subjectes experimentals es realitza a partir de quatre proves que són, i per aquest ordre:

- Geotaxi negativa: Es col·loca l'animal en el centre d'un pla inclinat amb 20° d'angle, situat a l'extrem de la taula, i mirant cap avall. Es mesura el reflex de la geotaxi negativa comptant el temps que triga l'animal en realitzar el gir de 180°. Es comptabilitza dient si té el reflex adquirit o no.

- Pla Inclinat (*Inclined screen*): Per fer aquesta prova, el pla ha de tenir una inclinació de 80°, l'animal se situa mirant cap amunt i en el centre del filat metàl·lic. L'aparell es posa damunt d'una taula. Es compta el temps que l'animal resta en l'aparell, essent la durada màxima d'aquesta prova d'un minut.

- Cilindre Fix (*Road walking*): Aquesta prova intenta mesurar l'habilitat de la rata per mantenir-se en equilibri. L'animal se situa en el centre i paral·lel a la barra cilíndrica horitzontal, de tal manera que es pugui agafar. Les mesures que es prenen són el temps de permanència damunt del cilindre i la presència o absència de desplaçament damunt d'aquest, aquesta prova té com a durada màxima seixanta segons.

- Barra Penjada (*Wire hanging*): Amb aquesta prova es pretén avaluar el reflex de prensió. En aquest cas l'habilitat per aferrar-se a una barra horitzontal amb les dues potes

Procediment

del davant. El subjecte experimental es col·loca al mig de la barra, de tal manera que es pugui aguantar amb les dues potes davanteres. No hi ha temps límit i es comptabilitza la permanència en la barra penjada, i la presència o no de desplaçament per la barra, aixecades de les potes de darrera i els intents de pujar damunt de la barra.

1.4 AVALUACIÓ CONDUCTUAL

L'avaluació conductual s'inicia entre els 75 i 78 dies d'edat i consta de les proves següents:

1.4.1. Prova Llum-Fosca

Aquesta prova es realitza en una caixa Shuttle adaptada. Hi ha un compartiment il·luminat i un altre a les fosques, els dos compartiments estan separats per una paret de cartró dur. Existeix, però, un espai entre el terra de la gàbia i aquesta paret de 2,5 cm, que permet el lliure pas de l'animal d'un compartiment a l'altre.

S'inicia la prova col·locant el subjecte experimental en el compartiment fosc. El temps de durada d'aquesta prova és de 10 minuts i s'enregistren els següents paràmetres:

- Canvis de compartiment.
- Número de mirades al compartiment amb llum.
- Número de mirades al compartiment fosc.
- Temps acumulat amb llum.
- Temps acumulat a la fosca.
- Defecació.

Aquest test s'utilitza per mesurar la necessitat de canvi d'estimulació que tenen els animals.

1.4.2. Aprenentatge: Evitació passiva

L'evitació passiva es realitza en una caixa Shuttle amb comandament automàtic, de la casa Lafayette Ins. Co. Mod. 82401-SS, i està dividida per una paret en dos compartiments, restant un d'aquests sempre a les fosques. Els dos compartiments estan comunicats mitjançant una comporta, el tancament de la qual es pot controlar manualment des del comandament de la caixa. L'estímul incondicionat és un xoc suau de 0.5 mA i de 3 segons de durada, que s'administra a través del terra de la gàbia en el compartiment fosc. La llum del compartiment il.luminat actua com a estímul delta, mentre que la foscor actua com a estímul discriminatiu.

Aquest procediment d'aprenentatge es realitza en dues sessions. La primera sessió es duu a terme per la tarda i consisteix en realitzar l'assaig de presentació d'estímuls. L'animal s'introdueix en el compartiment il.luminat; quan canvia de compartiment es tanca la porta i se li administra el xoc. Es mesura la latència, és a dir, el temps que tarda en canviar de compartiment. Es retira l'animal de la Shuttle i es retorna a l'estabulari fins l'endemà, que és quan es realitzarà la segona sessió. En la segona sessió, realitzada a les 18 hores d'haver-se fet la primera, es torna a introduir l'animal en el compartiment il.luminat. L'animal no torna a rebre cap més xoc i es mesura el temps que tarda a entrar en el compartiment fosc. Aquest assaig té un límit de temps que és de 3 minuts i 18 segons, si en aquest espai el subjecte no canvia de compartiment, s'apaga el llum i es dona per finalitzada la prova i es retira l'animal de la caixa, anotant aquest temps màxim com a registre d'aquest assaig.

1.4.3. Test de Boissier

Aquesta prova conductual es porta a terme en una caixa quadrada de fusta. El terra d'aquesta, on hi han vuit forats, està dividit en quatre zones iguals delimitades per dues línies ortogonals i paral·leles als costats de la caixa. Se situa l'animal en el centre de l'aparell i s'inicia la prova, que té una durada de cinc minuts. Els paràmetres que s'enregistren són:

- Deambulacions: Cada canvi de quadrant que l'animal realitza col·locant les quatre potes dins de la zona.
- Forats: Els forats es defineixen com a mesures d'exploració que l'animal realitza quan introdueix el cap en ell fins, com a mínim, l'alçada dels ulls.
- Rearings: Cada vegada que l'animal s'aixeca i manté l'equilibri amb les potes de darrera.
- Defecacions.

Aquesta prova és utilitzada per avaluar activitat i exploració.

1.4.4. Prova del laberint elevat (*elevated plus-maze*).

Aquesta prova fou estandaritzada pel grup de Pellow (Pellow et al., 1985). L'aparell que s'utilitza és un laberint en forma de X amb dos braços oberts i dos braços tancats, que es troba a 50 centímetres del terra. Se segueix el mateix protocol que en aquest treball, excepte que en lloc de passar un *holeboard* prèviament abans d'introduir l'animal en el laberint elevat, els nostres subjectes passen pel Test de Boissier. La durada de la prova és de 5 minuts i s'enregistren les entrades tant en els braços oberts com en els tancats, així com en el temps de permanència en cadascun dels braços. Pellow i File consideren que és un bon test per provar el poder ansiolític i ansiogènic de fàrmacs nous (Pellow i File, 1986).

1.4.5. Camp Obert

La prova de camp obert parteix de la de Broadhurst i fou modificada al nostre laboratori per García i altres (1984), amb l'objectiu de mesurar la deambulació com a mesura d'activitat independent de la reactivitat emocional. L'aparell consisteix d'un cercle dividit en 19 àrees d'igual superfície. S'enregistren el nombre de defecacions, de deambulacions i d'aixecades. Aquesta prova es passa dos dies consecutius i durant 4 minuts.

Aquest test s'utilitza per avaluar l'activitat locomotriu i la reactivitat emocional.

1.4.6. Prova d'interacció social

La prova d'interacció social es realitza en el mateix aparell on es passa la prova de Camp Obert, i en aquesta prova s'avalua la conducta de dos animals alhora. Els animals que realitzaven la prova havien de pertànyer al mateix grup experimental i no eren germans entre ells. La durada és de 10 minuts i s'enregistra amb l'ajut d'una càmera de vídeo (SONY, CCD), de tal manera que l'anàlisi de les pautes conductuals es realitza posteriorment. File i Hyde (1979) la consideren un bon test per verificar el poder ansiolític de fàrmacs nous. Les pautes conductuals que s'estudien estan dividides en dues categories: pautes socials, aquelles conductes relacionades amb l'activitat de l'altre subjecte, i pautes no socials, conductes no relacionades amb l'altre. Dins de cada categoria, tal i com assenyalen Grant i McIntosh (1963), s'inclouen les següents pautes conductuals:

Pautes socials: Aproximació i seguiment, olorar i neteja, interacció passiva, passar per sota i/o per sobre, atac, fugida i defensa.

Pautes no socials: Investigació de l'entorn, autoneteja, deambulació, immobilitat.

De totes aquestes pautes s'analitza el temps que cada animal dedica realitzant-les,

Procediment

mitjançant un programa informàtic cedit per Paul Brain per a l'anàlisi de pautes conductuals en rosegadors.

1.5 EXTRACCIÓ DE SANG I EVALUACIÓ ENDOCRINA:

Per tal d'avaluar l'estat tiroïdal de les rates s'obtenen unes mostres de sang, entre els 87 i 90 dies d'edat un cop acabada l'avaluació conductual, per tal de realitzar les anàlisis necessàries. Els animals que no tenen anàlisi histològica són sacrificats per decapitació. Abans, però, són lleugerament adormits amb éter. Aquesta manipulació creiem que és absolutament justificable si es té present que els subjectes amb estudi histològic reben aquest tipus d'anestèsic, a més creiem que és imprescindible que tots els animals rebin la mateixa manipulació experimental, sobretot tenint en compte que segueixen una avaluació endocrina comuna.

En aquells subjectes que són utilitzats per a l'estudi histològic l'extracció es realitza mitjançant punció en la cava ascedent abans de realitzar la perfusió vascular.

Les diferents mostres de sang es recullen en bials i immediatament després són centrifugades per aconseguir el sèrum a partir del qual es realitzaran les anàlisis endocrines. Primer es centrifugen les mostres a 3000 revolucions per minut durant 10 minuts. Quan aquest programa acaba, es pipeteja el sobrenedant de sèrum ric en plaquetes i es realitza la segona centrifugació amb la mateixa velocitat però amb una durada de 15 minuts per obtenir el màxim rendiment. El sèrum que s'obté es diposita en diferents alíquotes i es conserven en el congelador a -40° C per a la posterior anàlisi radioimmunològica.

De cada animal s'obtenen les quantitats en sèrum de l-tiroxina (T_4) i de l'hormona estimulant de la tiroxina (TSH).

1.6. HISTOLOGIA I ANÀLISI MORFOMÈTRICA

1.6.1 Mètode de Golgi ràpid en talls

El tipus de tinció argèntica emprada es basa en una versió modificada del mètode d'impregnació de Golgi en talls de Gabbott i Somogyi (1984).

Després d'adormir l'animal amb éter i obtingudes les mostres de sang, es perfundeix a través del ventricle esquerre, via aorta ascendent, primer amb una solució salina al 0.9%, durant aproximadament 5 minuts (volums de 50 o 150 ml. en funció de si l'animal és de 21 dies o és adult) i després durant 20 minuts amb una solució de paraformaldèhid al 4% en tampó fosfat 1 M i al 1.5% d'àcid pícric (volums de 250 o 400 ml., si la rata és de 21 dies o adulta). Per dur a terme aquesta perfusió vascular s'utilitza una bomba d'infusió-extracció (Harvard Apparatus mod 55-2222).

Un cop extret el cervell, es deixa amb aquesta mateixa solució durant 24 hores en postfixació. Posteriorment es realitza el mètode de tinció de Golgi en talls emprant una versió modificada del protocol de Gabbott i Somogyi (1984). El cervell, mitjançant un vibràtom (Vibracut), es tallat en seccions coronals de 150 μm en un bany de dicromat potàssic en aigua destil·lada al 3%. Els talls són incubats en aquesta solució durant 24 hores més. Després d'un rentat amb aigua destil·lada, es procedeix a la realització de "sandwixos". Per a tal fi es dipositen 4-5 talls en un porta, s'assequen lleugerament amb un paper de filtre i es disposa una altra porta sobre aquest, es mantenen junts amb l'ajut d'una goma elàstica. Immediatament es col·loquen aquests "sandwixos" en una solució de nitrat de plata a l'1.5%, això permet que la impregnació argèntica es doni per capil·laritat, difonent la plata des de la superfície del tall i evitant així la formació de precipitats en la resta del teixit que es troba en contacte amb el vidre. Es tenen els talls en plata tota la nit, a les fosques i a temperatura

Procediment

ambient. L'endemà es separen les portes i es dispositen els talls en vials per tal de rentar-los, així com per realitzar una deshidratació successiva, finalment són netejats i es procedeix al montatge definitiu.

1.6.2 Anàlisi morfomètrica

D'acord amb el disseny doble cec emprat, els talls histològics tenen adjudicat un nombre, que es manté, tal i com s'ha dit, fins al final del procediment experimental.

Per tal d'assegurar que l'anàlisi es realitza en la mateixa població neuronal en tots els animals, hem restringit l'anàlisi a subregions concretes de l'hipocamp i hem distingit entre l'hipocamp anterior (septal) i posterior (temporal). En les figures 1.1 i 1.2 es poden observar quines han estat les zones estudiades.

Les neurones que han d'ésser analitzades han estat seleccionades seguint els criteris de Gould et al. (1990b i c) i Woolley et al. (1990). Aquests són:

- 1) Que les neurones piramidals CA1 i CA3 es trobin localitzades en les subregions escollides.
- 2) Que hi hagi una tinció de Golgi consistent i fosca en tota la neurona.
- 3) Que les neurones adjacents no estigun tenyides per tal de poder realitzar l'anàlisi individual de la cèl·lula.
- 4) Absència de precipitat adjacent.

Fig. 1.1. Esquema de la secció coronal que mostra les regions de la formació hipocampal septal a partir de les quals s'escollien les neurones a analitzar. Secció corresponent amb referència a bregma i segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986).

Fig. 1.2. Esquema de la secció coronal que mostra les regions de la formació hipocampal temporal a partir de les quals s'escollien les neurones a analitzar. Secció corresponent amb referència a bregma i segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986).

Procediment

La selecció de les neurones es fa al microscopi (Nikon, mod. Optiphot-2) amb els objectius de baix augment. Les neurones seleccionades es dibuixen amb l'ajut d'una càmera lúcida (Nikon, mod drawing tube L) com a tub de dibuix a 500 augments. De cada neurona s'avaluen els següents paràmetres:

- El nombre de dendrites primàries apicals.
- El nombre de dendrites primàries basals.
- El nombre de dendrites secundàries apicals.
- El nombre de dendrites secundàries basals.
- El nombre de punts de ramificació apicals.
- El nombre de punts de ramificació basals.

Per tal d'avaluar la densitat d'espines dendrítiques també s'ha seguit el protocol de Gould et al., (1990b i c) i Wooley et al. (1990), de tal manera que per cada neurona piramidal es prenen dues mesures de densitat d'espines que són:

- La densitat d'espines dendrítiques de la dendrita terciària més lateral de l'arbre apical.
- La densitat d'espines dendrítiques de la dendrita secundària més lateral de l'arbre basal.

Per fer aquesta anàlisi les dendrites seleccionades han estat dibuixades a 1250 augments. Un cop dibuixades es compta el nombre d'espines i amb l'ajut del programa Neurorat (programa informàtic de suport per a estudis morfomètrics desenvolupat per nosaltres) es quantifica la longitud de la dendrita. La densitat d'espines dendrítiques s'expressa segons la següent fórmula:

$$DE = \frac{n}{ID}$$

A on 'DE' és la densitat d'espines dendrítiques, 'n' és el nombre d'espines i 'ID' la longitud de la dendrita.

S'han analitzat de cada animal totes aquelles neurones de cadascuna de les regions hipocampal que reunien tots els criteris per ser analitzades.

1.7 ANÀLISI ESTADÍSTICA

Els efectes dels diferents tractaments sobre la conducta han estat avaluats mitjançant l'Anàlisi Multivariada de la Variància (MANOVA). Aquest tipus d'anàlisi es mostra molt potent quan el nombre de variables dependents no supera el nombre de subjectes que componen cada un dels efectes a estudiar. Així doncs, a partir de la matriu de correlacions s'han seleccionat les variables conductuals que entraran dins de cada anàlisi, de manera que les variables escollides presentin altes correlacions amb les no escollides i que siguin representatives de tota la bateria de proves conductuals. Per tal d'observar la significació de cada un dels graus de llibertat dels tractaments s'ha utilitzat el mètode dels efectes partits (*Partitioned effects method*).

Els efectes dels diferents tractaments sobre el pes, els nivells plasmàtics de la T₄ i la TSH, tant als 21 dies com en l'edat adulta, així com en els índexs de la bateria psicomotriu, han estat avaluats mitjançant l'anàlisi de la variància amb un sol factor (ONEWAY), i el test de Duncan s'ha fet servir per determinar les diferències entre els grups. L'anàlisi multifactorial de la variància (MANOVA) s'ha dut a terme per avaluar els efectes de la

Procediment

interacció entre els dos períodes de tractament i s'han realitzat els contrastos de Scheffer per determinar el sentit de les diferències.

L'anàlisi de la variància no paramètrica (s'ha utilitzat l'estadística no paramètrica ja que la mida de les mostres és molt reduïda) mitjançant la prova de Kruskal-Wallis ha estat emprada per avaluar els efectes dels tractaments en els nivells hormonals dels grups de control endocrins i histològics.

Per avaluar l'efecte dels tractaments sobre la morfologia neuronal s'ha emprat l'anàlisi multivariada de la variància.

Totes aquestes proves les hem realitzat mitjançant el paquet estadístic SPSS/PC+.

2. RESULTATS

2.1 INDUCCIÓ AL DISTIROÏDISME

2.1.1 Efectes del tractament en període perinatal en la rata de 21 dies

Les rates tractades amb methimazole en el moment del deslletament eren enanes, mostrant una aparença infantil amb el cap i el morro més arrodonit, i tenien el tamany del cos reduït. Per altra part, les rates tractades amb tiroxina es caracteritzaven per un cos i un morro allargats i tenien l'aparença general d'un adult en "miniatura" (vegeu Fig. 2.1).

L'anàlisi de la variància ens indicava que el pes dels subjectes als 21 dies quedava afectat pel tractament perinatal ($F=10.2100$; g.l. = 2,95; $P<0.001$). El sentit de les diferències era l'esperat: els subjectes tractats amb methimazole tenien un pes inferior als animals tractats amb tiroxina i als del grup de control (Duncan $P<0.05$). Els resultats obtinguts es poden observar en més detall en el següent quadre:

Tractament	n	mitjana	D.T.
Control	30	42.85	8.5744
Methimazole	32	35.5156	4.6637
Tiroxina	36	41.5194	6.9842

TAULA I : Pes corporal, expressats en grams, dels tres grups en funció del tractament perinatal. (n, nombre; DT desviació típica).

Resultats

Fig. 2.1 Aspecte general de les rates en el moment de finalitzar el tractament en període perinatal als 21 dies d'edat. (a: tractament amb Methimazole; b: Control; c: tractament amb tiroxina).

Pel que fa als nivells plasmàtics de la T_4 en els grups de control endocrí als 21 dies, els resultats obtinguts es poden veure en la següent taula:

C21	M21	T21
m = 6.44	m = 1.4	m = 6.64
DT = 1.72	DT = 0.26	DT = 0.92
n = 5	n = 3	n = 10

TAULA II : Nivells plasmàtics de T_4 dels tres grups de control endocrí expressats en μgr per 100 ml. de sèrum. (T21 tractament de tiroxina, M21 tractament de methimazole, C21 grup control; m mitjana, DT desviació típica).

Els valors mínims i màxims obtinguts eren 3.6 i 8.2 $\mu\text{gr}/100\text{ml}$ de sèrum pel grup C21, mentre que pel grup T21 el valor mínim era 5.2 i el màxim 7.8 $\mu\text{gr}/100\text{ml}$ de sèrum. Pel que fa als intervals de probabilitat de les mitjanes amb una 95% de confiança, els límits de l'interval pel grup C21 eren 4.3 i 8.58, mentre que els límits de l'interval pel grup T21 eren 6.9 i 7.3. L'anàlisi de la variància no paramètrica mitjançant la prova de Kruskal-Wallis ens mostrà que hi havien diferències significatives entre els grups de control endocrí ($j_1^2 = 7.1158$; $P = 0.028$). Aquestes diferències eren significatives entre els grups C21 i M21 ($j_1^2 = 5$; $P = 0.025$), però no entre C21 i T21.

2.1.2 Efectes del tractament en edat adulta en els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta

Els nivells plasmàtics de la T_4 i de la TSH dels grups amb tractament en l'edat adulta es poden veure expressats en la taula III.

Resultats

L'avaluació dels nivells de tiroxina en la sang ens mostrà que hi havia diferències entre els tres grups ($F = 31.861$; g.l. = 2,27; $P < .0001$) en el sentit esperat. Així, el grup que presentà els nivells més elevats de la T_4 en la sang fou el grup que havia rebut el tractament de tiroxina; el grup que havia rebut methimazole presentà els nivells més baixos d'hormona tiroïdal en la sang. Aquests dos grups diferien del grup de control amb un nivell de significació inferior al 0.05.

	CC	CM	CT
T_4	m = 8.98 DT = 1.416	m = 1.73 DT = 0.5856	m = 14.725 DT = 6.13
TSH	m = 1.822 DT = 0.848	m = 10.41 DT = 3.294	m = 1.335 DT = 0.455
n	10	10	10

TAULA III : Nivells plasmàtics de la T_4 i la TSH dels tres grups amb tractament adult expressats en micrograms per 100 ml. i nanograms per ml. de sèrum, respectivament. (CT tractament de tiroxina, CM tractament de methimazole, CC grup control; m mitjana, DT desviació típica, n nombre de subjectes).

Pel que fa als nivells de la TSH, s'observaren diferències significatives entre els grups ($F = 66.3868$, g.l. = 2,28; $P < 0.0001$), essent el grup CM el qui presentava els nivells més elevats en comparació amb CC i CT, sense que hi haguessin diferències significatives entre aquests dos últims grups.

2.1.3 Efectes del tractament en període perinatal en la rata adulta

L'anàlisi de l'evolució del pes dels subjectes amb tractament perinatal ens indicà que en finalitzar el període de tractament, és a dir, als 21 dies, el pes corporal estava afectat per la manipulació tiroïdal perinatal (ONEWAY; $F=2.8256$, g.ll. =2,28, $P=0.0762$). El grup methimazole mostrava un decrement del pes respecte al grup de control (test de Duncan $P<0.05$). Aquest decrement significatiu es mantenia fins als 60 dies d'edat dels animals (ONEWAY; $F=3.1444$, g.ll. =2,22, $P=0.06$) (vegeu Fig. 2.2).

Els nivells hormonals del subjectes que van rebre només tractament perinatal es poden observar en la següent taula (vegeu taula IV). No s'observaren diferències entre els grups ni en els nivells plasmàtics de la T_4 ($F=1.4705$; g.ll. =2.28; $P= 0.2470$) ni en els de la TSH ($F = 0.4515$; g.ll. =2, 28; $P = 0.6412$) al final de la fase experimental (87-90 dies).

	TC	MC	CC
T_4	m = 8.05 DT = 1.83	m = 7.87 DT = 1.345	m = 8.98 DT = 1.41
TSH	m = 2.010 DT = 1.011	m = 1.678 DT = 0.399	m = 1.822 DT = 0.848
n	11	10	10

TAULA IV : Nivells plasmàtics de la T_4 i la TSH dels tres grups amb tractament perinatal expressats en micrograms per 100 ml. i nanograms per ml. de sèrum, respectivament. (CT tractament de tiroxina, CM tractament de methimazole, CC grup de control; m mitjana, DT desviació típica, n numero subjectes per grup).

Resultats

Fig. 2.2. Evolució del pes corporal expressat en grams d'aquells animals que han seguit el tractament perinatal.

2.1.4 Efectes de la interacció entre els dos període de tractament sobre els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta

Pel que fa als nivells plasmàtics de la TSH, l'anàlisi factorial de la variància revelà que, tal i com s'ha vist en l'apartat 1.2., només quedaven afectats pel tractament en l'edat adulta (vegeu taula V). En canvi, el tractament en el període perinatal i la interacció entre els dos períodes de tractament no semblaven tenir efectes sobre els nivells plasmàtics de la TSH avaluats al final de la fase experimental.

Factor	F	G.LL.	P
T₄			
Tract. Perinatal	3.81	2,88	0.026
Tract. Edat Adulta	103.72	2,88	0.000
Interacció	3.45	4,88	0.012
TSH			
Tract. Perinatal	1.19	2,88	0.308
Tract. Edat Adulta	195.99	2,88	0.000
Interacció	1.74	4,88	0.149

TAULA V : Índexs estadístics obtinguts en aplicar l'anàlisi de la variància amb dos factors per avaluar els efectes dels dos tractaments sobre els nivells plasmàtics de T₄ i TSH en l'animal adult (G.LL., graus de llibertat i P, grau de significació).

L'anàlisi factorial de la variància ens mostrà que tant el tractament perinatal com el tractament en l'edat adulta alteraven els nivells plasmàtics de la T₄ avaluats als 88-90 dies d'edat dels subjectes experimentals i que hi havia una interacció significativa entre els dos

Resultats

períodes de tractament (vegeu taula V).

L'estudi dels efectes partits revelà que quan el tractament en edat adulta era de control no hi havien diferències en els nivells de la T_4 en funció del tractament que els animals havien seguit en el període perinatal (MANOVA; $F=0.46$; g.ll. = 2,88, $P=0.632$). Tampoc apareixien diferències en els nivells plasmàtics de la T_4 en funció del tractament seguit en el període perinatal quan el tractament en l'edat adulta era el methimazole (MANOVA; $F=2.54$; g.ll. = 2,88; $P=0.085$), però sí que s'observaven diferències quan el tractament en l'edat adulta era de tiroxina (MANOVA; $F=6.67$; g.ll. = 2,88, $P=0.002$).

L'aplicació dels contrastos ens indicà que els nivells plasmàtics de la T_4 eren més elevats en els animals que havien seguit en el període perinatal el tractament de control que no pas els que durant aquest període havien seguit el tractament de la tiroxina ($t=3.529$; $P=0.001$) o el tractament del methimazole ($t=2.683$; $P=0.009$), tal i com es pot veure en la següent taula:

	CT	MT	TT
T_4	m = 14.72 DT = 6.13	m = 11.11 DT = 1.366	m = 7.426 DT = 4.907
n	10	11	12

TAULA VI : Nivells plasmàtics de T_4 dels tres grups amb tractament en vida adulta de tiroxina expressats en micrograms per 100 ml. de sèrum. (CT tractament perinatal control, MT tractament perinatal methimazole, TT tractament perinatal tiroxina; m mitjana, DT desviació típica, n numero subjectes per grup).

2. 2 AVALUACIÓ PSICOMOTRIU:

Tots els subjectes avaluats conductualment van obtenir bons resultats en totes les proves que composaven la bateria psicomotriu, amb la qual cosa cap animal va ser eliminat per no tenir un bon nivell neuromotor.

Malgrat tot, l'avaluació de la psicomotricitat ens indicà que hi havia diferències en el temps de permanència en la barra penjada entre els animals que havien seguit el tractament en l'edat adulta, encara que l'anàlisi global no fou significativa ($F = 2.4509$; $g.l.l = 2, 28$; $P = .1052$). Les diferències no es donen en tots els grups i en aplicar els contrastos veiem que només el grup CT90 restà més temps en la barra penjada que el grup CC90 ($P < 0.05$).

2.3 AVALUACIÓ CONDUCTUAL

La matriu de correlacions entre les diferents pautes conductuals enregistrades es pot observar en la taula 1 de l'Annex I. A partir d'aquesta matriu, tal i com s'ha indicat en l'apartat de procediment, es van seleccionar les variables que usarem en el MANOVA. Així, les mirades, el temps amb la llum i la latència de la prova llum-fosca; les deambulacions, les aixecades i els forats del test de Boissier; les deambulacions i les defecacions del segon camp obert; les entrades i el temps de permanència en els braços oberts del test del laberint elevat i la variable generada diferència entre el segon i el primer assaigs de l'aprenentatge d'evitació passiva van ser escollides com a variables dependents de l'anàlisi de la variància per la conducta individual.

2.3.1 Efectes del tractament perinatal en la conducta individual de la rata adulta

L'anàlisi multivariada de la variància ens mostrà que la conducta individual de la rata adulta estava afectada per la manipulació perinatal de l'eix tiroïdal (MANOVA Wilks=0.13844, g.ll.=22,36, P=0.003). En la taula 2 de l'annex I es poden observar els valors propis (*eigenvalues*) i les correlacions canòniques per a cada anàlisi realitzada.

L'anàlisi univariada de la variància (ANOVA; g.ll.=2,28) ens mostra diferències significatives en les deambulacions tant del Boissier com en les del camp obert (F=3.9292, P=0.031; F=14.5618; P<0.001, respectivament), en el nombre d'entrades i en el temps de permanència en els braços oberts del laberint elevat (F=4.7426, P=0.017; F=3.3862, P=0.048) i en les mirades de la prova llum-fosca (F=3.0969, P=0.061).

Quan apliquem el mètode dels efectes partits observem que la conducta individual de la rata adulta ha estat afectada per el dèficit perinatal d'hormones tiroïdals (MANOVA; Wilks=0.20542, g.ll.=11,18, P<0.001). El grup del methimazole comparat amb el grup de control mostrà un augment en les deambulacions del Boissier i el camp obert (F=5.18017, P=0.031; F=19.20391, P<0.001; respectivament) (vegeu la fig. 2.3), en les mirades de la prova llum-fosca (F=4.70036, P=0.039) (vegeu la fig. 2.4) i el nombre d'entrades en els braços oberts (F=4.95955, P=0.034) (vegeu la fig. 2.5) també eren més grans en el grup del methimazole que en el grup de control.

L'excés perinatal d'hormones tiroïdals no va tenir efectes en les pautes conductuals avaluades en la rata adulta (MANOVA; Wilks=0.70652; g.ll.=11,28, P=0.740) quan es comparaven el grup de la tiroxina amb el de control. Malgrat tot, l'anàlisi multivariada de la variància ens mostrà diferències entre els grups de la tiroxina i del methimazole (MANOVA Wilks=0.25256; g.ll.=11,28, P=0.002).

Resultats

En aquest cas, les diferències entre els dos grups no tan sols es reflectien en les mateixes pautes conductuals sinó que tant els forats del Boissier ($F=3.72604$; g.ll. =1,28, $P=0.064$) com el temps de permanència en els braços oberts ($F=6.60423$; $P=0.016$) eren també més grans en el grup del methimazole que en el grup de la tiroxina, i la latència de la prova llum-fosca era més petita en el grup del methimazole que en el grup de la tiroxina ($F=5.31019$, g.ll. =1,28, $P=0.029$) (vegeu la fig. 2.4).

2.3.2 Efectes del tractament perinatal en la prova de la interacció social de la rata adulta

La conducta social (o no individual), avaluada a partir del temps que els animals restaven realitzant les diferents pautes enregistrades en la prova d'interacció social, no es mostrà afectada per la manipulació perinatal de l'eix tiroïdal (MANOVA; Wilks=0.63622, g.ll. = 14,38, $P= 0.771$). En la taula 3 de l'annex I es poden observar els valors propis i les correlacions canòniques de les anàlisis realitzades.

Pel que fa a l'anàlisi univariada de la variància (g.ll. =2,25), aquesta ens mostra una tendència en la deambulació ($F=2.73562$, $P=0.084$).

El mètode dels efectes partits ens indicà que ni el dèficit ni l'excès perinatal d'hormones tiroïdals no va tenir efectes en aquest test conductual (MANOVA; Wilks=0.76532, $P=0.574$ i Wilks 0.86675, $P=0.880$, respectivament, i amb g.ll. =7,19) quan es comparaven amb el grup de control. Quan es realitzà l'anàlisi univariada de la variància, s'observà que el grup del methimazole restava més temps deambulant que el grup de control ($F=3.39715$, g.ll. =1,25, $P=0.077$). Per altra banda, no hi havien diferències significatives entre el grup del methimazole i el grup de la tiroxina (MANOVA, Wilks=0.75443, g.ll. =7,19, $P=0.538$), si bé el grup del methimazole presentava un

augment de la deambulació respecte al grup de la tiroxina ($F=4.93477$, g.ll. =1,25, $P=0.036$).

2.3.3 Efectes del tractament en edat adulta en la conducta individual de la rata individual

L'anàlisi multivariada de la variància ens mostrà que la conducta individual de la rata adulta no estava afectada per la manipulació en edat adulta de l'eix tiroïdal (MANOVA; Wilks=0.30881, g.ll. =22,34, $P=0.283$). Els valors propis i les correlacions canòniques de cada anàlisi multivariada realitzada es poden veure en la taula 4 de l'annex I. Tanmateix, l'anàlisi univariada de la variància (ANOVA; g.ll.=2,27) revelà que la manipulació endocrina afectava l'aprenentatge ($F=2.76188$, $P=0.081$).

Quan s'aplicà el mètode dels efectes partits s'observà que el dèficit d'hormones tiroïdals en l'edat adulta respecte el grup de control no tenia cap efecte en la conducta individual analitzada (MANOVA; Wilks= 0.65860, g.LL. =11,17, $P=0.639$). Tampoc s'observaren diferències quan es realitzà l'anàlisi univariada (ANOVA, g.ll= 1,27). Pel que fa a l'excés d'hormones en aquest període, l'anàlisi multivariada mitjançant els efectes partits no indicà que l'alteració endocrina tingués cap efecte sobre la conducta (Wilks= 0.49737, g.ll. =11,17, $P=0.198$), quan es comparava al control. Però si que s'observaren diferències en l'anàlisi univariada de la variància en l'aprenentatge ($F=5.5029$, $P=0.027$) en el sentit que un excés de la tiroxina interferia en l'aprenentatge d'evitació passiva (veure Fig 2.6a i 2.6b).

Finalment, cal assenyalar que no es detectaren diferències en la conducta dels animals que havien rebut el fàrmac antitiroïdal i els subjectes que havien rebut l'hormona tiroïdal, quan es comparaven ja fos amb l'anàlisi multivariada com amb la univariada.

Resultats

2.3.4 Efectes del tractament en edat adulta en la prova de la interacció social de la rata

La conducta social, avaluada a partir del temps de les diferents pautes enregistrades en la prova d'interacció social, es mostrà afectada per la manipulació de l'eix tiroïdal en l'edat adulta (MANOVA; Wilks=0.37989, g.ll. =14,42, P=0.060), tal i com es pot veure en la fig. 2.7a i 2.7b.

L'anàlisi univariada de la variància (g.ll. =2,27) ens mostrà diferències significatives en les pautes d'interacció passiva, investigació de l'entorn i passar per sota i/o sobre (F=3.30119, P=0.052; F= 3.54498, P=0.043 i F=3.99704, P=0.031, respectivament).

El mètode dels efectes partits ens indicà que l'excés d'hormones tiroïdals durant aquest període tenia efectes sobre la conducta social (MANOVA; Wilks 0.55236, g.ll=7,21, P=0.054) respecte els animals de control. En l'anàlisi univariada (ANOVA, g.ll. = 1,27), aquests efectes es van veure reflectits en les pautes no individuals en el sentit que l'excés d'hormona tiroïdal provocava una disminució de pautes, tals com la interacció passiva i passar per sota i/o sobre quan es comparaven amb els animals de control (F=4.7748, P=0.038 i F=6.4143, P=0.017). També quedà alterada la pauta d'investigació de l'entorn, però en aquest cas el tractament amb la tiroxina provocà un augment d'aquesta pauta conductual respecte els animals de control (F=4.2804, P=0.048).

Pel que fa a l'efecte del tractament amb el methimazole, els efectes partits ens indicaren que la conducta social també es veia afectada pel dèficit d'hormones tiroïdals en l'edat adulta (Wilks=0.57991, g.ll. =7,21, P=0.080) quan es comparaven amb els animals de control. En aquest cas l'anàlisi univariada (ANOVA, g.ll. =1,27) ens indicà que el dèficit hormonal provocava un decrement de les pautes socials, tals com la interacció passiva i el passar per sota i/o sobre respecte els de control (F=5.12261, P=0.032 i F=3.4679,

Resultats

$P=0.073$), i un augment de les pautes no socials, com és la investigació de l'entorn respecte els de controls ($F=6.18054$, $P=0.019$). Cal assenyalar que també s'observà un augment de la pauta olorar quan es comparava el grup del methimazole amb el de control ($F=4.9516$, $P=0.035$), si bé no s'ha d'oblidar que aquesta pauta no es veia alterada per la manipulació endocrina en la primera anàlisi univariada, tal i com ja s'ha dit a l'inici d'aquest apartat.

Un altre cop cal dir que no es detectaren diferències en la conducta social dels animals que havien rebut el fàrmac antitiroïdal i els subjectes que havien rebut l'hormona tiroïdal quan es comparaven, ja fos amb l'anàlisi multivariada com amb la univariada.

2.3.5 Efectes de la interacció dels dos períodes de tractament en la conducta individual de la rata adulta

L'anàlisi multivariada de la variància dut a terme per determinar l'efecte dels dos períodes de tractament es pot veure en la següent taula:

FACTOR	Wilks	G.LL	P
Tractament Perinatal	0.384	22,126	<0.001
Tractament Edat Adulta	0.812	22,156	0.746
Interacció	0.594	44,300	0.483

TAULA VII : Índexs estadístics obtinguts en aplicar l'anàlisi multivariada de la variància amb dos factors per avaluar els efectes dels dos tractaments sobre la conducta individual de l'animal adult (G.LL., graus de llibertat i P, grau de significació).

Resultats

Aquesta anàlisi ens mostrà que la conducta individual de la rata adulta quedava afectada per la manipulació endocrina que l'animal havia seguit en el període perinatal. En canvi, el tractament en l'edat adulta no semblava tenir efectes sobre la conducta individual de l'animal, de la mateixa manera que no s'observà una interacció significativa entre els dos tractaments (vegeu la taula VII).

L'anàlisi dels efectes simples ens indicà que apareixien diferències en la conducta individual en funció del tractament perinatal, tant si el tractament en l'edat adulta era de control (MANOVA; Wilks=0.532, g.ll.=22,156, $P < 0.001$), amb el methimazole (MANOVA; Wilks=0.607, g.ll.=22,156, $P = 0.008$) o amb la tiroxina (MANOVA; Wilks=0.620, g.ll.=22,156, $P = 0.012$).

Les diferències, quan el tractament en l'edat adulta era de control, ens indiquen l'efecte del tractament perinatal sobre la conducta individual en la rata adulta, que han estat explicades en l'apartat 3.1. Tan sols volem indicar que en aquesta anàlisi s'obtingueren els mateixos resultats.

Les diferències que s'observaven, quan el tractament en edat adulta era amb el methimazole, i que apareixien en funció del tractament en el període perinatal es reflectien entre aquells animals que havien rebut el methimazole respecte els que havien rebut la tiroxina (MANOVA; Wilks=0.697, g.ll.=11,78, $P = 0.02$), en el sentit que els animals que durant els dos períodes de tractament havien rebut el methimazole eren molt més actius i exploraven més que no pas aquells que en el tractament perinatal havien rebut la tiroxina i en l'edat adulta havien rebut el methimazole. Aquesta relació també s'observà en l'anàlisi univariada de la variància (g.ll.=1,88), ja que es trobaren diferències significatives en les pautes de deambulació en el Boissier i el camp obert ($F = 5.781$, $P = 0.018$ i $F = 4.894$,

$P=0.030$, respectivament) i en els forats del Boissier ($F=11.866$, $P=0.001$) (vegeu la Fig. x6). No s'observaren diferències entre els animals que en el període perinatal havien rebut la tiroxina i els que havien rebut el tractament de control.

En el tractament adult amb el methimazole també apareixien diferències en funció del tractament seguit en el període perinatal entre aquells animals que havien seguit el tractament de control i aquells que l'havien rebut amb methimazole (MANOVA; Wilks=0.743, g.ll.=11,78, $P=0.011$). El sentit de les diferències era el mateix que l'observat quan els tractaments perinatals eren el de la tiroxina i el del methimazole, és a dir, els animals que durant els dos períodes del tractament havien rebut el methimazole eren molt més actius i més exploradors que no pas aquells que en el tractament perinatal havien rebut el tractament de control i en l'edat adulta havien rebut el methimazole. També de la mateixa manera que abans aquestes diferències es reflectien en l'anàlisi univariada (g.ll.=1,88). De tal manera que les pautes conductuals afectades eren la deambulació i els forats del Boissier ($F=4.004$, $P=0.048$ i $F=7.296$, $P=0.008$, respectivament) i la deambulació en el camp obert ($F=3.45$, $P=0.067$) (vegeu la Fig. 2.8).

La conducta individual de la rata adulta quan el tractament en l'edat adulta era la tiroxina es mostrà afectada en funció del tractament que l'animal havia rebut en el període perinatal, de tal manera que els animals que havien seguit el tractament del methimazole es diferenciaven dels que havien seguit el tractament de la tiroxina (MANOVA; Wilks=0.730, g.ll.=11,78, $P=0.007$) i dels que havien seguit el tractament de control (MANOVA; Wilks=0.744, g.ll.=11,78, $P=0.011$).

Resultats

Quan el tractament en edat adulta era el de la tiroxina, les diferències que s'observaren, en funció dels tractaments perinatal, entre els animals del grups MT i TT, indicaven que els animals que en el període perinatal havien rebut el methimazole eren més actius i exploraven més que els que havien rebut la tiroxina, tal i com es desprenia de l'anàlisi univariada (g.ll.=1,88), ja que una altra vegada les pautes afectades eren les deambulacions, tant del Boissier com la del camp obert ($F=6.63$, $P=0.012$ i $F=10.021$, $P=0.002$, respectivament) i els forats del Boissier ($F=5.797$, $P=0.018$). Aquest tipus d'anàlisi també indicà que els animals que havien rebut el methimazole mostraven més reactivitat emocional que no pas els que havien rebut la tiroxina durant el tractament perinatal, ja que s'observaren diferències significatives en la defecació del camp obert ($F=5.832$, $P=0.018$). Per altra part, aquells animals que havien rebut la tiroxina restaven més temps en els braços oberts, així com mostraven una major latència en la prova llum-fosca que no pas aquells que havien rebut el methimazole en el període perinatal ($F=4.241$, $P=0.042$ i $F=4.139$, $P=0.045$, respectivament).

Les diferències que apareixen, quan el tractament en l'edat adulta era la tiroxina entre els animals que en el període perinatal havien rebut el methimazole i els que havien seguit el tractament de control, indicaven que els primers eren molt més exploradors que els segons. En l'anàlisi univariada (g.ll.=1,88) s'observaren diferències en les pautes de mirades de la prova llum-fosca ($F=8.865$, $P=0.004$) i en la deambulació en el Boissier ($F=4.308$, $P=0.003$) en el sentit indicat.

No van aparèixer diferències conductuals quan el tractament en l'edat adulta era la tiroxina, entre els animals que havien seguit el tractament de control i aquells que havien rebut la tiroxina en el període perinatal.

Resultats

2.3.6 Efectes de la interacció dels dos períodes de tractament en la prova de la interacció social de la rata adulta

L'anàlisi multivariada de la variància amb dos factors ens indicà que la conducta social de la rata adulta, enregistrada en funció del temps que els animals restaven realitzant cada pauta concreta, estava afectada tant pel tractament en el període perinatal com en l'edat adulta, tal i com s'indica en la següent taula:

Factor	Wilks	G.LL.	P
Tract. Perinatal	0.710	14,158	0.014
Tract. Edat Adulta	0.477	14,158	<0.001
Interacció	0.701	28,286	0.390

TAULA VIII : Índexs estadístics obtinguts en aplicar l'anàlisi multivariada de la variància amb dos factors per avaluar els efectes dels dos tractaments sobre la conducta social de l'animal adult (G.LL., graus de llibertat i P, grau de significació).

L'anàlisi dels efectes simples ens indicà que la conducta social es veia afectada pel tractament en l'edat adulta, ja fos que el tractament en el període perinatal era de control (MANOVA; Wilks=0.722, g.ll.=14,158, P=0.021), amb el methimazole (MANOVA; Wilks=0.559, g.ll.=14,158, P<0.001) o amb la tiroxina (MANOVA; Wilks=0.732, g.ll.=14,158, P=0.030).

Les diferències, quan el tractament en període perinatal era de control, ens reflecteixen l'efecte del tractament en l'edat adulta sobre la conducta social i ja han estat explicitades en l'apartat corresponent (vegeu apartat 3.4). Tan sols volem indicar que les dades obtingudes en aquesta anàlisi multivariada amb dos factors eren les mateixes que les trobades amb l'anàlisi unifactorial.

Tal i com s'ha indicat, la conducta social de la rata adulta, quan el tractament en el període perinatal era el methimazole, es mostrà afectada en funció del tractament que l'animal havia rebut en l'edat adulta, de tal manera que els animals que havien seguit el tractament de control es diferenciaven dels que havien rebut el tractament del methimazole (MANOVA; Wilks=0.715, g.ll. =7,79, $P < 0.001$) i dels que havien seguit el tractament de la tiroxina (MANOVA; Wilks=0.674, g.ll. =7,79, $P < 0.001$).

Les diferències observades, quan el tractament perinatal era el methimazole, entre els animals que en l'edat adulta havien rebut el tractament de control i els que havien seguit el tractament del methimazole es veien reflectides en l'anàlisi univariada (g.ll. =1,85) de la següent manera: els animals que havien rebut el tractament de control durant la vida adulta mostraven més deambulació ($F=10.328$, $P=0.002$) i menys investigació ($F=5.085$, $P=0.027$) de l'entorn en el test d'interacció social que els que havien rebut el tractament del methimazole. Aquest augment de deambulació dels animals que en l'edat adulta havien rebut el tractament de control també era significatiu respecte als animals que havien rebut el tractament de la tiroxina ($F=8.742$, $P=0.004$). En canvi, els animals que havien rebut el tractament de control restaven menys temps olorant al contrari que els animals que havien rebut la tiroxina en el tractament en l'edat adulta ($F=10.21$, $P=0.002$). No van aparèixer diferències entre els animals que havien rebut el methimazole i la tiroxina en el tractament adult i en el tractament perinatal havien rebut el methimazole (vegeu fig. 2.9).

La conducta social, quan el tractament en el període perinatal era la tiroxina, es mostrà afectada en funció del tractament que l'animal havia rebut en l'edat adulta, de manera que els animals que havien seguit el tractament de control es diferenciaven dels que havien rebut el tractament del methimazole (MANOVA; Wilks=0.787, g.ll. =7,79, $P=0.007$) i dels

Resultats

que havien seguit el tractament de la tiroxina (MANOVA; Wilks=0.839, g.l.=7,79, P=0.046).

Les diferències observades, quan el tractament perinatal era la tiroxina, entre els animals que en l'edat adulta havien rebut el tractament de control i els que havien seguit el tractament de la tiroxina es veien reflectides en el fet que els animals que en l'edat adulta havien rebut el tractament de control mostraven una conducta més social que els que havien rebut la tiroxina, ja que en l'anàlisi univariada (g.ll. = 1,85) es mostrava un augment de les pautes d'interacció passiva i passar per sobre i/o sota ($F=6.661$, $P=0.012$ i $F=7.045$, $P=0.009$, respectivament) respecte els que havien rebut la tiroxina i aquests restaven més temps investigant l'entorn que els que havien rebut el tractament de control en l'edat adulta ($F=5.34$, $P=0.014$). Aquestes mateixes diferències, quan el tractament en el període perinatal era la tiroxina, s'observaven entre els animals que en l'edat adulta havien seguit el tractament de control i els que havien seguit el tractament del methimazole, de tal manera que els animals que en l'edat adulta havien rebut el tractament de control mostraven més conducta social que els que havien rebut el methimazole, i en l'anàlisi univariada (g.ll. = 1,85) s'observava un augment de les pautes d'interacció passiva i passar per sobre i/o sota ($F=3.466$, $P=0.066$ i $F=3.456$, $P=0.066$, respectivament) respecte els que havien rebut el methimazole i aquests restaven més temps investigant l'entorn que els que havien rebut el tractament de control en l'edat adulta ($F=7.184$, $P=0.007$).

2.4 AVALUACIÓ MORFOLOGICA

4.1 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmica en la rata de 21 dies

L'avaluació del tractament perinatal sobre la morfologia de les neurones piramidals hipocàmiques dels camps CA1 i CA3 es va realitzar a partir d'aquelles neurones que complien els requisits que s'han exposat en l'apartat de mètodes. Un total de 23 neurones que

Resultats

provenien de 9 animals diferents dels grups de control endocrí i histològic (C21, M21 i T21) van ésser analitzades.

La estadística descriptiva dels paràmetres enregistrats es pot veure en la taula IX. El nombre de neurones estudiat fou de 3 del grup C21, 8 del grup M21 i 2 del grup T21. Degut al poc nombre de neurones, l'anàlisi multivariada es va realitzar utilitzant com a variables dependents el nombre de ramificacions primàries, tant basals com apicals i el nombre de punts de ramificació, també basals i apicals. Donat que es van registrar el nombre de dendrites secundàries, es contabilitzava com a punt de ramificació a partir de les ramificacions terciàries. D'aquesta manera les variables escollides recullen aspectes de la morfologia propera al nucli i a aspectes més d'extensió del neuropili. Tanmateix, el nombre baix de neurones no ens va permetre distingir entre CA1 septal i temporal ni entre CA3 septal i temporal. Sinó que l'anàlisi es va limitar als dos camps cel·lular CA1 i CA3.

L'anàlisi multivariada posà de manifest que la morfologia de les neurones CA1 estava afectada per la manipulació endocrina perinatal (MANOVA; Wilks=0.02139, g.ll. =8,14 $P < 0.001$). L'anàlisi univariada (ANOVA, g.ll. = 2,10) ens indicà que els paràmetres afectats per el tractament perinatal eren els punts de ramificació tant basals ($F = 11.02251$, $P = 0.003$) com apicals ($F = 150.4238$, $P < 0.001$) (vegis Fig. 2.10 i 2.11).

Resultats

	Grup C21	Grup M21	Grup T21
Camp CA1			
Dend. prim. apicals	1.0 0.00	1.25 0.463	1.0 0.000
Dend. secund. apicals	5.33 0.577	15.0 0.756	4.5 2.121
Dend. terc. apicals	7.33 1.1553	0.375 0.518	5.0 2.828
Punts ramif. apicals	7.33 0.577	0.50 0.756	10.0 1.414
Dend. prim. basals	2.0 10.0	2.875 1.126	2.5 0.707
Dend. secund. basals	3.33 0.577	1.75 1.488	5.0 2.828
Dend. terc. basals	3.67 2.517	0.5 1.414	8.0 2.828
Punts ramif. basals	2.0 1.00	0.5 1.414	5.5 0.707
Nombre espines apicals/ 10 μm	2.8 0.64	0.3 0.44	5.0 0.6
Nombre espines basals/ 10 μm	---	0.00 0.00	4.375 0.05

TAULA IX : Índex descriptius morfològics de les cèl·lules CA1 piramidals en la rata de 21 dies. Efectes del tractament en període perinatal. Els valors representen la mitjana \pm la desviació típica. (Dend. prim.: dendrites primària; Dend. secund.: dendrites secundària; Dend. terc.: dendrites terciàries Punts ramif.: punts de ramificació).

Resultats

L'anàlisi dels efectes partits ens indicà que la morfologia neuronal de les cèl·lules CA1 quedava afectada pels dèficits d'hormones tiroïdals durant el període perinatal (MANOVA; Wilks=0.04638, g.ll.=4,7 $P < 0.001$). Amb l'anàlisi univariada (ANOVA, g.ll.=1,10) observarem que les neurones d'aquells animals que durant el període perinatal foren tractats amb methimazole (grup M21) tenien menys punts de ramificació tant basals ($F=6.65188$, $P < 0.001$) com apicals ($F=152.81818$, $P=0.027$) respecte als animals de control (grup C21).

Pel que fa a l'efecte de l'excés d'hormones tiroïdals, durant el període perinatal, sobre la morfologia neuronal s'observà una clara tendència a la significació ($P=0.083$). Amb l'anàlisi univariada (ANOVA; g.ll.=1,10) observarem les neurones CA1 dels animals tractats amb tiroxina durant aquest període (grup T21) presentava més punts de ramificació apicals que els animals del grup C21 ($F=12.8$, $P=0.005$). També hi havia una tendència a presentar més punts de ramificació basals que els control ($F=3.65854$, $P=0.085$) (vegis Fig. 2.12).

Pel que fa a l'efectes del tractament en període perinatal sobre la densitat d'espines dendrítiques del camp CA1, l'estudi es realitzà sobre 3 neurones del grup C21, 7 del grup M21 i 2 del grup T21. L'anàlisi univariada ens mostrà que la densitat d'espines en les dendrites apicals de la regió CA1 estaven afectada pel tractament (ONEWAY; $F=77.2804$, g.ll.=2,9, $P < 0.001$). La densitat d'espines dendrítiques basals del grup tractat amb tiroxina era més gran que la del grup de control i la del grup tractat amb methimazole (Duncan, $P < 0.05$) (vegis fig. 2.13, 2.14 i 2.15). Tanmateix, les dendrites basals dels animals tractats amb methimazole presentaven una menor densitat dendrítica que les dels animals de control (Duncan, $P < 0.05$). En quant la densitat d'espines basals, s'observà que cap de les

Results

Resultats

analitzades dels animals que havien rebut methimazole presentava espines dendrítiques. En canvi si que eren presents en els animals que havien rebut tiroxina.

Donat que de cèl·lules piramidals CA3 d'animals que haguessin estat tractats amb tiroxina i que superessin els criteris per ser analitzades tan sols en vam obtenir una, els efectes del tractament perinatal sobre la morfologia es van limitar a l'estudi dels efectes provocats pel dèficit d'hormones tiroïdals. Els resultats obtinguts es poden veure en la següent taula:

	Grup C21		Grup M21	
Camp CA3				
Dend. prim. apicals	1.8	0.049	1.25	0.5
Dend. secund. apicals	2.8	1.095	2.25	0.5
Dend. terc. apicals	3.0	1.581	2.5	1.291
Punts ramif. apicals	2.8	1.304	1.75	0.5
Dend. prim. basals	2.8	0.447	2.25	1.5
Dend. secund. basals	4.4	1.342	3.5	1.291
Dend. terc. basals	4.4	3.007	1.25	0.957
Punts ramif. basals	0.5	1.00	0.5	1.0
Nombre espines apicals/ 10 μm	1.6	0.052	1.1	0.062
Nombre espines basals/ 10 μm	---		0.0	0.00

TAULA X: Índex descriptius morfològics de les cèl·lules CA3 piramidals en la rata de 21 dies. Efecte dels dèficits d'hormones tiroïdals en període perinatal. Els valors representen la mitjana \pm la desviació típica. (Dend. prim.: dendrites primària; Dend. secund.: dendrites secundària; Dend. terc.: dendrites terciàries Punts ramif.: punts de ramificació).

Resultats

L'estudi dels efectes partits de l'anàlisi multivariada de la variància indicà que la morfologia neuronal de les cèl·lules CA3 no estava afectada pel dèficit de les hormones tiroïdals (MANOVA; Wilks=0.25876, g.ll. =4,4 P=0.166). L'anàlisi univariada (ANOVA; g.ll. = 1,7) ens mostrà que aquells animals que havien rebut methimazole (grup M21) presentaven menys els punts de ramificacions basals en les neurones CA3 que els animals de control (C21) (F= 5.30102, P=0.055) (vegis Fig. 2.16 i 2.17).

Pel que fa a la densitat d'espines dendrítiques no s'observaren diferències en les dendrites apicals mentre que en les dendrites basals del animals del grup M21 no presentaven espines dendrítiques (n=3).

2.4.2 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmica de la rata de 90 dies

L'anàlisi de l'efecte del tractament en període perinatal sobre la morfologia hipocàmica del camp CA1, quan l'animal és adult, es va realitzar sobre 4 neurones del grup MC i 3 del grup CC. És per això que tan sols es va avaluar l'efecte del dèficit d'hormones tiroïdals i es va limitar a les ramificacions basals per la manca de neurones. Les variables depenens de l'anàlisi multivariada foren totes aquelles que fan referència a la morfologia de la part basal de les neurones piramidals. Els resultats obtinguts es poden observar en la taula XI.

Resultats

	Grup CC	Grup MC
Camp CA1		
Dend. prim. basals	3.0 1.0	2.25 1.5
Dend. secund. basals	6.0 2.646	3.5 1.291
Dend. terc. basals	4.0 1.732	1.25 0.957
Punts ramif. basals	3.0 2.646	0.5 1.0
Nombre espines basals/ 10 μm	---	2.2 0.8

TAULA XI : Index descriptius morfològics de les cèl·lules CA1 piramidals en la rata de 90 dies. Efecte del tractament en període perinatal. Els valors representen la mitjana \pm la desviació típica. (Dend. prim.: dendrites primària; Dend. secund.: dendrites secundària; Dend. terc.: dendrites terciàries Punts ramif.: punts de ramificació).

L'estudi dels efectes partits de l'anàlisi multivariada mostrà que l'arbre dendrític basal del camp CA1 estava afectat per la manca d'hormones tiroïdals durant el període perinatal (MANOVA; Wilks=0.02324, g.ll.=4,2 , P=0.046). De tal manera que el dèficit d'hormones tiroïdals provocava que les neurones piramidals CA1 mostressin més punts de ramificació i més dendrites terciàries en l'arbre basal que les neurones dels animals de control (F=11.05609, g.ll.=1,5, P=0.021 i F=26.78571, g.ll.=1,5, P=0.004)(vegeu fig. 2.18).

L'anàlisi de l'efecte del tractament en període perinatal sobre la morfologia hipocàmica del camp CA3, quan l'animal és adult, es va realitzar sobre 4 neurones d'animals del grup MC, 2 del grup TC i 3 del grup CC. En aquest cas l'anàlisi es va realitzar sobre tot l'arbre dendrític. Els resultats es poden observar en la taula VIII de l'annex 1.

Resultats

L'anàlisi multivariada ens indicà que l'arborització dendrítica de les neurones CA3 en l'animal adult no estava afectada pel tractament perinatal. L'anàlisi univarida no revelà cap diferència, així com tampoc s'observaren per cap tipus de tractament.

2.4.3 Efectes del tractament en edat adulta sobre la morfologia hipocàmica

L'anàlisi de l'efecte del tractament en edat adulta sobre la morfologia del camp CA1 es va realitzar sobre 4 neurones d'animals del grup CM, 3 del grup CT i 3 del grup CC. L'avaluació es va limitar a les ramificacions basals per la manca de neurones. Els resultats obtinguts es poden veure en la taula XII.

L'anàlisi multivariada revelà que la morfologia dels arbres dendrítics basals del camp CA1 no estava afectada pel tractament en edat adulta. En canvi, l'anàlisi univarida (ANOVA, g.l. = 1,7) ens indicà que un excés de tiroxina provocava que les neurones presentessin un major nombre de dendrites principals que les neurones del grup de control ($F=6.000$, $P=0.044$)(vegeu fig. 2.19) i les neurones del grup CM ($F=10.71429$, $P=0.0014$). També s'observà les neurones del grup CM presentaven més punts de ramificació que les neurones del grup control ($F=5.60777$, $P=0.050$)(vegeu fig. 2.20).

L'anàlisi de l'efecte del tractament en edat adulta sobre la morfologia del camp CA3 es va realitzar sobre 2 neurones d'animals del grup CM, 2 del grup CT i 3 del grup CC. I també es va limitar l'anàlisi a l'arbre basal. Els resultats obtinguts es poden observar en la taula XII. En aquest cas, ni l'anàlisi univariada, ni l'anàlisi multivariada revelaren diferències en els index estudiats.

Resultats

	Grup CC	Grup CM	CT
Camp CA1			
Dend. prim. basals	3.0 1.00	2.5 1.0	5.0 1.000
Dend. secund. basals	6.0 2.646	5.25 0.5	9.67 4.726
Dend. terc. basals	4.0 1.132	7.5 4.79	5.0 1.732
Punts ramif. basals	3.0 2.646	8.75 4.03	5.0 2.000
Camp CA3			
Dend. prim. basals	4.0 2.646	5.0 0.0	8.5 2.121
Dend. secund. basals	5.33 1.528	10.5 2.121	4.0 1.414
Dend. terc. basals	8.0 5.196	10.0 7.071	9.5 2.121
Punts ramif. basals	5.33 0.577	9.0 4.213	10.0 1.414
Camp CA1			
Nombre espines basals/ 10 μ m	2.8 0.64	0.3 0.44	5.0 0.6
Camp CA3			
Nombre espines basals/ 10 μ m	---	0.00 0.00	4.375 0.05

TAULA IX: Índex descriptius morfològics de les cèl·lules CA1 i CA3 piramidals en la rata de 90 dies. Efecte del tractament en edat adulta. Els valors representen la mitjana \pm la desviació típica. (Dend. prim.: dendrites primària; Dend. secund.: dendrites secundària; Dend. terc.: dendrites terciàries Punts ramif.: punts de ramificació).

Resultats

2.4.4 Efectes de la interacció entre els dos períodes de tractament sobre la morfologia hipocàmica de la rata adulta

Donat el reduït nombre de neurones, l'anàlisi de l'efecte de l'interacció entre els dos períodes de tractament es limità a estudiar la interacció entre el dèficit d'hormones tiroïdals durant el període perinatal i els diferents tractaments en l'edat adulta. S'estudiaren les característiques de l'arbre basal d'un total de 17 cèl·lules piramidals de CA1 i 10 neurones de CA3. Els resultats obtinguts es poden veure en la taula 9 del Annex 1.

L'estudi dels efectes simples de l'anàlisi multivariat de la variància no revelà cap efecte de la interacció entre el dèficit d'hormones tiroïdals i els tractaments seguits en edat adulta sobre la morfologia de l'arbre basal ni en el camp CA1 ni en el camp CA3 hipocàmpic.

3. DISCUSSIÓ

3.1 INDUCCIÓ AL DISTIROÏDISME

3.1.1 Efectes del tractament en període perinatal en la rata de 21 dies

La disminució del pes que s'observa en els nostres animals que han rebut el fàrmac antitiroïdal era del tot esperable, ja que els dèficits d'hormones tiroïdals cursen amb un decrement del pes corporal (Johanson, 1980; Johanson et al., 1980; Comer i Norton, 1982; Walters i Morell, 1981; Tamasy et al., 1986a, 1986b). En aquest sentit, el decrement del pes als 21 dies que mostren els animals amb el tractament perinatal amb el methimazole, ens podria indicar que hi ha uns nivells baixos d'hormones tiroïdals. Pel que fa als estats d'hipertiroïdisme, aquesta dada (el pes) no és del tot clara, ja que si bé s'han descrit decrements en el pes corporal (Pelton i Bass, 1973; Walters i Morell, 1981), altres autors no han trobat diferències en aquest índex (Johanson, 1980). En el nostre treball, aquells animals que han rebut la tiroxina no es diferencien dels de controls. Donat que les variacions en el pes corporal en els estats d'hipertiroïdisme no estan massa clares, creiem que a partir d'aquesta variable no podem inferir quelcom més.

La manipulació perinatal de l'eix tiroïdal ha estat efectiva donat que hem obtingut els nivells baixos d'hormones tiroïdals esperats com a conseqüència del tractament amb el methimazole, tal i com es desprèn de l'avaluació endocrina dels animals dels grups de control endocrins (C21 i M21).

Pel que fa al tractament amb la tiroxina, els nivells plasmàtics de la T_4 que presenten els animals no es diferencien del grup de control. Volem destacar que, malgrat no hi hagi diferències entre les mitjanes dels grups T21 i C21 i tenint present que la dimensió del grup

Discussió

de la tiroxina és el doble de gran que la de control, en determinats casos els nivells plasmàtics dels animals tractats amb la tiroxina assoleixen valors situats un punt i un punt i mig per sobre de la mitjana del grup C21. Una altra dada important la trobem en el fet que els animals del grup T21 presenten menys dispersió que els del grup C21 i que, tal i com queda reflectit en els intervals de probabilitats de les mitjanes, el tractament amb la tiroxina ha provocat que desapareguin les fluctuacions en els nivells plasmàtics de la T_4 que apareixen en els de control, i que aquests valors siguin establement més elevats, encara que aquestes diferències no s'observin en les mitjanes.

Per altra banda, creiem que les alteracions d'hormones tiroïdals induïdes perinatalment no han estat massa severes, ja que no hem tingut problemes de supervivència o de mort prematura de les cries, a diferència de les dades aportades per altres autors (Johanson et al., 1980a; 1980b); Timiras, 1988).

3.1.2 Efectes del tractament en edat adulta en els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta

La inducció al distiroïdisme en l'edat adulta s'ha mostrat efectiva, tal i com es desprèn dels resultats obtinguts tant en els nivells plasmàtics de la T_4 com de la TSH. De fet, l'administració del fàrmac antitiroïdal o de la tiroxina per via oral en animals adults, si bé tampoc és molt freqüent, en la bibliografia consultada és més habitual que en el període perinatal. Els nostres animals, després de rebre el methimazole amb una dosi de 0.2 mgr/ml durant tres setmanes, presenten uns valors mitjans de la T_4 en sèrum de 1.73 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Uns valors similars han estat trobats per altres autors que treballen amb la mateixa dosi de methimazole (Osuna et al., 1993).

També s'ha observat que l'administració oral de la tiroxina augmenta els nivells en sèrum de la T_4 de manera dosi-dependent (Osuna et al., 1993). En aquest treball no s'ha utilitzat cap dosi de la tiroxina com la que hem emprat nosaltres, la que podem agafar de referència és més alta (0.4 mg %). Tan sols volem destacar que les nostres rates tractades amb la tiroxina presenten uns valors de la T_4 superiors als que obtenen Osuna et al. (1993) amb aquesta dosi, però cal recordar que la durada del nostre tractament és superior.

3.1.3 Efectes del tractament en període perinatal en la rata adulta: Recuperació espontània de l'eix tiroïdal

Com ja s'havia assenyalat, els efectes sobre l'eix tiroïdal dels tractaments que els nostres subjectes segueixen és reversible, per tant, el fet de no trobar diferències en els nivells plasmàtics de la T_4 i la TSH en aquells animals que només rebien el tractament en el període perinatal era del tot previsible. Hi ha dades que indiquen que en les rates amb dieta deficient en iode i tractades amb PTU, els nivells de la T_4 en el plasma tornen a valors normals i es restableix el mecanisme de *feed-back* negatiu sobre la secreció de la TSH, entre el 8è i 12è dia després de retirar el goitrògen i tornar a una alimentació normal; i malgrat que entre els dies 4rt i 8è hi hagi un nivell normal de la T_3 circulant, sembla ser que per si mateix no és capaç d'inhibir la secreció de la TSH (Rognoni et al, 1984). Donat que entre la retirada dels tractaments en el període perinatal i l'extracció de sang transcorren més de 50 dies i que els animals no presenten diferències ni en els nivells plasmàtics de la T_4 ni de la TSH, podem dir que l'eix tiroïdal s'ha recuperat de la manipulació endocrina perinatal. Per altra part, aquestes dades endocrines es veuen confirmades amb l'evolució del pes d'aquests animals, ja que les diferències que apareixien en finalitzar el tractament en el

període perinatal no s'observen a partir dels 60 dies d'edat. D'acord amb aquests resultats, podem dir que els nostres animals, en el moment de l'extracció de les mostres sanguínies, presentaven una bona activitat de l'eix tiroïdal.

3.1.4 Efectes de la interacció entre els dos període de tractament sobre els nivells d'hormones tiroïdals de la rata adulta

L'estudi de l'efecte de la interacció entre els dos períodes de tractament ens aportà dades rellevants ja que la interacció entre ambdós era significativa. Que la interacció fos significativa ens podria indicar que l'eix tiroïdal no s'ha recuperat de la manipulació perinatal. En funció dels resultats obtinguts en els animals que tan sols tenen tractament en el període perinatal, i donat que els efectes simples significatius són deguts a l'efecte del tractament perinatal, pensem que la recuperació de l'eix tiroïdal és inqüestionable. Tenint present aquesta recuperació ens hem plantejat una altra possibilitat. D'aquesta manera, donat que l'eix tiroïdal s'havia recuperat de la manipulació perinatal, era esperable que els nivells plasmàtics de la T_4 reflectissin els efectes del tractament en l'edat adulta. Però això només succeeix en el cas que el tractament en l'edat adulta és el methimazole. Quan el tractament en l'edat adulta és la tiroxina, al contrari del que era esperable, apareixen diferències en funció del tractament seguit en el període perinatal. De tal manera que sembla com si el fet d'haver alterat l'eix en el període perinatal fes que fos més difícil provocar una alteració per excés en l'eix tiroïdal. Donat que tan sols succeeix amb el tractament amb la tiroxina, pensem que aquest fet pot ser causat per mecanismes compensatoris propis de l'eix, és a dir, com si l'alteració en l'edat perinatal provoqués que l'eix fos menys vulnerable. Aquest efecte no seria observable quan el tractament implica el fàrmac antitiroïdal pel propi mecanisme

d'acció del methimazole que, com ja s'ha dit, no permet la formació de les hormones tiroïdals (Capen i Martin, 1989).

A manera de resum, l'anàlisi global de les dades que tenim per tal de validar el mètode emprat per induir estats de distiroïdisme ens porta a concloure que hem aconseguit provocar alteracions en l'eix tiroïdal, tant en el període perinatal com en l'edat adulta, sense caure en la endocrinopatia severa. Hem d'assenyalar que les alteracions per dèficit d'hormones tiroïdals en els períodes perinatals han estat més greus que les induïdes per excés. Potser si haguessim utilitzat una dosi més gran de la tiroxina en el tractament en el període perinatal, haguessim aconseguit una alteració més greu.

Donades les característiques de l'administració del tractament, oral i voluntari, aquesta dada ens sembla molt valuosa i de gran utilitat per tots aquells treballs que tinguin com a objectiu, al igual que el nostre, l'estudi de la conducta. Hem aconseguit un model experimental que permet induir estats de distiroïdisme i que no implica la manipulació de l'animal, cosa que ens assegura una avaluació conductual pura, sense la contaminació que suposen altres mètodes tals com la tiroïdectomia o les administracions subcutànies.

Pensem que el pes corporal pot ser un bon indicador dels estats amb dèficits d'hormones tiroïdals, però que els estats d'excés d'aquestes hormones no tenen perquè anar acompanyats per disminucions en el pes corporal. En aquest sentit, quan el distiroïdisme és induït en l'edat adulta, malgrat no apareguin diferències significatives, després de 20 dies de tractament hi ha una clara tendència a què els animals amb dèficits d'hormones tiroïdals presentin un decrement en el pes corporal respecte als animals de control, mentre que els animals amb un excés d'hormones tiroïdals no es diferencien dels de controls. És per tot això que considerem que els dèficits en els nivells basals d'hormones tiroïdals, d'aquells animals

Discussió

que han rebut una manipulació en l'eix tiroïdal, es reflectiran en un decrement del pes corporal.

3.2 AVALUACIÓ PSICOMOTRIU

El fet de no trobar diferències en l'avaluació de la psicomotricitat ens pot indicar que aquestes conductes no s'han vist afectades pels diferents tractaments. Pel que fa als tractaments en el període perinatal, donat que l'avaluació es realitza sobre reflexos que són d'aparició molt primerenca però que són avaluats en l'edat adulta, la manca de diferències ens podria indicar que el període de recuperació ha estat suficient per tal que els animals, en l'edat adulta, tinguin una bona psicomotricitat. Aquesta darrera idea seria concordant amb aquelles dades clíniques que ens diuen que els nens als quals se'ls diagnostica un hipotiroïdisme en el naixement, quan són tractats amb hormones tiroïdals, als cinc anys d'edat mostren un òptim desenvolupament de la psicomotricitat gruixuda (Timiras & Nzekwe, 1989). Pel que fa als tractament en l'edat adulta, la manca de diferències ens pot indicar que les alteracions de l'eix tiroïdals induïdes no tenen cap efecte sobre la psicomotricitat avaluada o bé ens pot estar indicant que l'alteració tiroïdal provocada no és suficientment forta per alterar aquestes conductes. Les diferències observades en el temps de permanència en la barra penjada, són degudes a què els animals que en l'edat adulta han rebut la tiroxina resten més temps en la barra, però això no vol dir que els que han rebut el methimazole o el grup de control no siguin capaços de mantenir-se en la barra penjada. És per això que cap animal ha estat eliminat per no presentar una bona psicomotricitat. En qualsevol dels casos, tenint present que no preteníem aconseguir un quadre patològic i que l'objectiu de l'avaluació

psicomotriu era assegurar un bon grau de competència neuromotriu, pensem que amb aquestes dades hem assegurat que les alteracions conductuals que observem no siguin produïdes per alteracions en el sistema motriu i que els nostres subjectes, malgrat presentar alteracions tiroïdals, no són subjectes amb una endocrinopatia.

3.3 AVALUACIÓ CONDUCTUAL

3.3.1 Alteracions perinatals i conducta individual en la rata adulta

Davant el fet que la conducta individual de la rata adulta està afectada pel tractament en el període perinatal podem dir que, malgrat la recuperació i l'interval de temps transcorregut des del final del tractament i la realització de les proves conductuals, l'efecte dels tractaments ha estat important ja que les diferències conductuals s'observen en els dos grups d'animals. Pensem que aquest fet ha estat possible gràcies a l'elecció del període d'afectació, que coincideix amb els períodes del desenvolupament ontogenètic de les estructures neurals implicades en les conductes que hem avaluat, període, com ja s'ha dit, en el qual l'efecte sobre l'expressió gènica és més gran.

Tal i com es desprèn dels resultats, el dèficit d'hormones tiroïdals durant el període perinatal provoca alteracions en la conducta individual de l'animal adult. Aquesta no és una dada novedosa, ja que, com ja s'ha destacat, des de fa molts anys se sap que les hormones tiroïdals són essencials pel bon desenvolupament de l'organisme. Que l'excés d'hormones tiroïdals induït no hagi afectat la conducta de la rata individual quan es compara amb els animals de control pot ser explicat si es té en compte que la nostra intenció no era provocar estats patològics, i com ja hem apuntat, els dèficits del substrat biològic tenen més efectes que els excessos. A més a més, no hem d'oblidar que els animals són avaluats

conductualment després que hagin recuperat l'activitat normal de l'eix tiroïdal, tal i com hem esmentat en les línies precedents.

Malgrat tot, creiem que el que les nostres dades posen en evidència és que petites alteracions de l'eix tiroïdal durant un ampli període perinatal, provoquen uns efectes que són conductualment observables fins i tot després d'un llarg període de recuperació. I que aquests efectes conductuals que hem observat fan referència a aspectes intrínsecs del subjecte com són l'activitat o l'emocionalitat.

Pel que fa a l'activitat, cal assenyalar que l'augment d'aquesta és una conducta característica de les rates rehabilitades de l'hipotiroïdisme postnatal (Tamasy et al, 1986a, 1986b; Schalock et al 1977), però s'assenyala que disminueix gradualment amb l'edat (Tamasy et al, 1986a). Els nostres animals que han rebut el methimazole en el període perinatal, mostren un augment de la deambulació tant en el test de Boissier com en el camp obert en edats superiors als 75 dies. Així podem dir que un dèficit d'aquestes hormones durant el desenvolupament fa que els animals siguin més actius després d'un ampli període de rehabilitació (més de 50 dies). De fet, s'ha demostrat que les rates hipotiroïdes, per injecció única de iode radioactiu, presenten una ontogènesi de l'activitat locomotora espontània marcadament interferida pel seu estat endocrí. En aquests animals, la supressió de la seva mobilitat és màxima als 15 dies i, malgrat que entre els dies 45 i 60 d'edat segueix essent baixa, no difereix estadísticament dels corresponents de control (Rastogi i Singhal, 1979). Però hi ha autors que no troben diferències en l'activitat locomotriu avaluada als 20 dies entre els de control i les hipotiroïdes amb el methimazole des del dia 17è de gestació fins al 10è postnatal (Albee et al., 1989) i com ja s'ha dit, altres treballs ens mostren un decrement de l'activitat locomotriu (Comer i Norton, 1982; Johanson et al, 1986).

En els darrers anys s'ha confirmat la implicació del nucli estriat i les vies dopaminèrgiques nigroestriada i mesocorticolímbica sobre el control motor i sobre el sistema d'activació conductual. D'altra banda, se sap que l'hipotiroïdisme neonatal provoca una depressió del sistema dopaminèrgic (Rastogi et al, 1976), que en les vies estriades implica una pèrdua dels receptors dopaminèrgics (Vaccari et al., 1981) i, més concretament, de receptors D₁ i D₂, així com deficiències en els processos de recaptació i emmagatzemament, reducció del transport de DA, i un decrement del segon missatger l'AMP_c (Vaccari et al., 1990). L'augment de l'activitat que mostren les rates tractades amb el methimazole, el podríem atribuir al decrement dels receptors dopaminèrgics presinàptics (D₂) en les vies estriades (Vaccari et al., 1990).

Per la seva part, l'hipertiroïdisme provoca una sensibilització (Strömbom et al., 1977) i un decrement de la densitat dels receptors dopaminèrgics, però no sembla ser que l'hipertiroïdisme provoqui una hipersensibilitat dels receptors dopaminèrgics, sinó que implicaria un mecanisme de *feedback* del tipus "baix nombre de receptors o sensibilitat baixa" <—> "alta síntesi de neurotransmissor" (Vaccari et al., 1981), aquesta dada ens podria explicar la manca de diferències en l'activitat entre els animals que han rebut la tiroxina i els animals del grup de control.

Però si analitzem la conducta mostrada al llarg de totes les proves conductuals i no ho fem de manera aïllada, així com si tenim present que els animals amb excés d'hormona durant el desenvolupament exploren menys, podem dir que la manca d'hormones tiroïdals fa que els subjectes no es vegin afectats tant pels ambients nous i es mostrin més "plàcids" (Eyars, 1960). Aquesta idea és concordant amb els resultats del laberint elevat: els animals que han rebut el goitrògen entren més vegades i resten més temps en els braços oberts que

els animals que han rebut l'hormona i que els animals del grup de control (entrades braços oberts). Per altra part, les puntuacions de la prova de llum-fosca ens indicarien que les rates que han rebut la tiroxina tindrien menys necessitat de canvi d'estimulació que les que han rebut el goitrògen; però, ja que aquestes rates no difereixen de les de control, pensem que les diferències entre els dos grups que han rebut tractament són degudes a la ràpida habituació a les situacions noves que mostren les rates hipotiroïdes.

Cal ressaltar que la conducta mostrada en la prova del laberint elevat per les rates tractades amb la tiroxina, correspon al perfil conductual d'aquells animals que han rebut fàrmacs ansiogènics, mentre que quan s'administren ansiolítics la *performance* en aquesta prova és la mateixa que la que mostren els nostres animals que han rebut el methimazole (Pellow & File, 1986). En aquest sentit, podríem dir que el nivell d'hormones tiroïdals durant el desenvolupament juga un paper important en l'emocionabilitat que mostra el subjecte en l'edat adulta: nivells baixos d'hormones tiroïdals provocarien una baixa emocionalitat, mentre que els excessos provocarien una alta emocionabilitat. Creiem important ressaltar aquestes dades, ja que estem parlant de petites alteracions en els nivells d'hormones tiroïdals durant un ampli període del desenvolupament, l'efecte de les quals pot ser observat en l'individu adult quan mostra un funcionament idoni d'aquest eix hormonal.

En aquest sentit, la manca de diferències observades en la prova de interacció social, prova que també s'ha utilitzat per l'estudi de l'ansietat, podria sorprendre o bé fer-nos pensar que els resultats van en contra de la nostra suposició. Aquesta manca de diferències pot ser explicada pel fet que la sensibilitat d'aquesta prova fos menor a la prova del laberint elevat o bé que avaluessin diferents característiques. Pensem que probablement sota un únic constructe s'hi troben emmarcades diferents característiques que fan referència a diferents

aspectes de l'emocionalitat dels subjectes. De manera que les modificacions en l'emocionalitat que fessin referència a quelcom constitucional de l'individu serien detectables amb el laberint elevat i, en canvi, aquests subjectes no mostrarien cap alteració conductual en la prova de la interacció social.

L'hipertiroïdisme provoca un increment específic de l'activació dels receptors noradrenèrgics de tipus alfa. Aquesta sensibilització dels receptors noradrenèrgics ha estat relacionada amb la simptomatologia dels trastorns afectius, ja que s'han implicat a les catecolamines cerebrals en el control afectiu (Strömbom et al., 1977). Així doncs, els perfils ansiosos que mostren les rates podrien estar relacionats amb alteracions en els sistemes catecolaminèrgics. Tampoc es pot descartar un substrat serotoninèrgic en el perfil conductual en les proves d'ansietat, ja que el sistema serotoninèrgic es troba disminuït en estats d'hipotiroïdisme (Vaccari et al., 1983) i elevat en el cas de l'hipertiroïdisme (Rastogi & Singhal, 1976).

La manca de marcades diferències entre els grups en l'aprenentatge d'evitació passiva ens indica que no hi ha un deteriorament de la consolidació de la memòria i/o de la retenció en aquest tipus de tasca i està en la línia de treballs similars previs (Eyars, 1966; Schapiro, 1968; Tamasy et al., 1986). Aquests resultats poden ser deguts al tipus d'aprenentatge que s'ha escollit, el qual implica una tasca de detecció de l'estímul luminós i una resposta motora, és a dir, és un aprenentatge dels considerats "senzills". L'elecció d'aquests tests va ser motivada perquè l'hipotiroïdisme neonatal afecta molt més els sistemes auditori i olfactiu que no pas el visual (Ruiz Marcos et al., 1983), i amb l'evitació passiva ens asseguràvem que a l'hora d'avaluar l'aprenentatge no hi haguessin interferències degudes a alteracions en el sistema perceptiu.

El deteriorament tant de l'escorça cerebral com de l'hipocamp causat per l'hipotiroidisme estan ben documentats des de Eyars a final dels anys 60, destacant els darrers treballs de Rami i col·laboradors. A més a més, està establert que la tiroxina provoca un creixement exuberant de fibres molsoses infrapiramidals hipocàmiques que empitjora l'aprenentatge d'evitació activa (Lipp et al, 1988) i millora l'aprenentatge d'un laberint radial (Schwelger et al, 1991). Així doncs, és possible que tasques senzilles, com l'evitació passiva, no requereixin un substrat neural completament intacte o bé es pot suposar que el sistema nerviós presenta una gran plasticitat i una marcada capacitat per la rehabilitació, sempre que hi hagin els mitjans disponibles (un funcionament adient de l'eix tiroïdal i un període suficient de rehabilitació en els nostres animals). En aquest sentit, resultats recentment obtinguts pel nostre grup mostren que quan l'evitació passiva és avaluada als 40 dies, la capacitat d'aprenentatge queda afectada pel tractament perinatal (resultats no publicats).

3.3.2 Alteracions en l'edat adulta i conducta

Un dels resultats que creiem més clars d'aquest estudi és que es posa de manifest la implicació de l'estat tiroïdal en la conducta del subjecte adult i que els efectes es reflecteixen en característiques conductuals diferents a les observades quan l'alteració es produeix en el període perinatal. Així, si bé en aquest període el dèficit d'hormones tiroïdals es mostra molt més determinant per la conducta de l'animal adult que l'excés, alhora que les pautes que es veuen més afectades són les d'activitat i exploració, quan l'alteració de l'eix tiroïdal es produeix en l'adulthood tant l'excés com el defecte tenen conseqüències sobre la conducta. En aquest cas, les característiques conductuals més afectades són aquelles que es relacionen amb l'estat ansiós del subjecte.

El distiroïdisme induït en els nostres subjectes en l'edat adulta no sembla provocar canvis en la seva activitat. Aquesta dada contradiu clarament els resultats de Fundaró (1989). A causa del fet que la metodologia emprada per Fundaró, per tal d'induir les alteracions en l'eix tiroïdal, és molt semblant a la utilitzada per nosaltres, creiem que les discrepàncies són degudes als factors motivacionals (Denenberg, 1958). L'autor utilitza un camp obert atemoridor (el nostre no ho és) i tan sols avalua la conducta dels animals una vegada, i és un fet reconegut que els animals en un ambient no familiar mostren un decrement de l'activitat. Els nostres animals tractats es mostren igual d'actius que els de control en totes aquelles proves que es registren les pautes d'activitat, és a dir, els dos camps oberts i el test de Boissier. És per això que ens sembla que és un resultat molt consistent i pel que fa als animals hipertiroïdes està d'acord amb el treball de Rastogi i Singhal (1976), en el qual les pautes d'activitat també són valuades més d'una vegada.

La pitjor adquisició de l'aprenentatge d'evitació passiva que mostra el grup que ha rebut la tiroxina respecte el de control és de difícil interpretació. En aquesta tasca d'aprenentatge, l'animal ha d'aprendre a quedar-se quiet al compartiment amb llum, malgrat la seva tendència natural sigui anar a la fosca, és a dir, l'animal ha d'inhibir aquella resposta que li és natural. És per això que el sistema d'inhibició conductual hi ha estat implicat. Una pitjor execució en aquest aprenentatge ens podria indicar alteracions en aquest sistema d'inhibició conductual del qual l'hipocamp en forma part (Gray, 1982). En aquest sentit, es coneix que la tiroxina altera la distribució de les fibres molsoses hipocàmiques (Lauder i Mugnani, 1977) i que aquesta distribució alterada es correlaciona negativament amb un aprenentatge d'evitació activa de dos sentits (Lipp et al., 1988).

Tal i com s'ha indicat, tant la prova del laberint elevat com la d'interacció social, són

tests que s'utilitzen freqüentment en farmacologia per provar fàrmacs ansiolítics o ansiogènics. Com hem vist, l'efecte del tractament en l'edat adulta tan sols s'observa en la prova d'interacció social. Un altra vegada, cal recordar el que succeïa amb el tractament en el període perinatal, aquest fet suggereix que aquestes proves conductuals avaluen diferents tipus de característiques que s'engloben dins d'un constructe únic d'ansietat. Així, es pot distingir entre tret i estat o bé parlar d'ansietat somàtica i ansietat psicològica.

Ja que els fàrmacs ansiolítics augmenten els nivells d'interacció social (File, 1980), podríem dir que els animals que han rebut la tiroxina i el methimazole són més ansiosos que els de control, ja que estan molt menys temps que aquests realitzant pautes socials. Però, si ens fixem en les pautes concretes, veiem que aquesta diferència entre el grup de control i els grups amb tractament és deguda a la pauta d'interacció passiva, mentre que en les pautes socials actives les diferències que trobem són: en la pauta d'olorar el grup amb tractament de metimazole puntua més alt que el grup de control; en canvi, en la pauta passar per sobre i/o per sota el grup de control puntua més alt que el grup tractat amb la tiroxina. Semblaria, doncs, que un excés d'hormona tiroïdal provocaria un augment d'ansietat en l'animal, mentre que un dèficit d'aquesta hormona tendiria a reduir l'ansietat.

Tenint present les dades obtingudes en la prova d'interacció social, podem fer una altra lectura dels resultats obtinguts en l'evitació passiva, ja que no es poden oblidar els factors emocionals i es pot suposar que aquests poden estar interferint l'aprenentatge. De tal manera que si el nivells elevats d'hormona tiroïdal provoquen que aquests animals es mostrin més ansiosos, potser per això tendrien a canviar més ràpidament de compartiment que els de control, i, per tant, farien pitjor l'aprenentatge.

3.3.3 Efecte de la interacció dels dos períodes de tractament i conducta individual

Les dades obtingudes posen clarament de manifest la importància que tenen les hormones tiroïdals durant el desenvolupament, ja que les alteracions en l'eix tiroïdal induïdes en aquest període afecten la conducta individual de la rata adulta. Volem destacar que pel tipus d'anàlisi estadística realitzada es pot dir que per la conducta individual de la rata adulta les alteracions provocades en el període perinatal semblen ser molt més crítiques que les alteracions induïdes en l'edat adulta. Aquestes dades eren previsibles si es té present els resultats obtinguts quan s'anализava l'efecte dels dos períodes de tractament per separat. La única incògnita que quedava per descobrir era veure l'efecte de la interacció entre els dos tractaments sobre la conducta individual. Si tenim present que els nostres animals han tingut un interval de temps suficient entre ambdós tractaments per recuperar-se, si més no en l'aspecte endocrí i pel que fa al pes corporal, la manca de significació entre els dos tractaments era fins un cert punt esperable.

Per altra banda, la implicació que les hormones tiroïdals en el període perinatal tenen en l'activitat i l'exploració de l'animal adult, en el sentit que uns nivells baixos d'hormones tiroïdals provocarien més activitat i més exploració en el subjecte adult, no sembla que es doni en l'edat adulta. De manera que les diferències que apareixen en les pautes relacionades amb activitat i exploració, són sempre degudes a què durant el període perinatal s'ha seguit el tractament amb el methimazole. Un exemple clar el tenim entre els grups MM i TM i entre MM i CM, aquest grups difereixen entre sí en les pautes d'activitat i exploració, mentre que entre els grups TM i CM no hi ha diferències.

Volem destacar l'aparent conducta contradictòria que mostren els subjectes que en els dos períodes de tractament han rebut la tiroxina (el grup TT). Per les dades obtingudes en

l'anàlisi dels efectes de les hormones tiroïdals en l'edat adulta, podem dir que els nivells elevats d'hormones tiroïdals en l'edat adulta afectarien l'emocionalitat dels subjectes. En canvi, aquest grup TT resta més temps en els braços oberts del laberint elevat que el grup MT, la qual cosa indicaria una baixa emocionalitat. Aquestes discrepàncies amb el que era esperable en l'àmbit conductual, pensem que poden ser en part explicades si es tenen presents els resultats de l'avaluació endocrina. Com ja s'ha dit, el grup TT presenta els nivells més baixos de la T₄ de tots els grups que en l'edat adulta han rebut el tractament amb la tiroxina.

La manca de treballs existents que avaluin l'efecte de la interacció dels dos tipus d'alteracions tiroïdals, com el nostre, fa difícil qualsevol tipus de dissertació. Nosaltres pensem que amb aquesta avaluació es posa en evidència que el paper que les hormones tiroïdals juguen en la conducta de l'animal adult no és el mateix en el període perinatal que en l'edat adulta, tal i com queda reflectit en la manca de significació en la interacció. Aquest fet recolzaria la idea que els efectes organitzacionals de les hormones tiroïdals no són els mateixos que els efectes activacionals, la qual cosa no és discrepant amb les idees expressades al principi d'aquest treball en el fet que nosaltres considerem que el cervell en desenvolupament pot mostrar unes característiques diferents al cervell ja desenvolupat.

3.3.6 Efecte de la interacció dels dos períodes de tractament i prova de la interacció social

De nou les dades obtingudes amb la prova d'interacció social ens recolzarien la independència dels efectes de les hormones tiroïdals en la conducta en funció del període de tractament, ja que l'efecte de la interacció no es mostrà significativa. Tanmateix, cal tenir present que la manca de significació d'una interacció no té perquè significar per si mateixa la independència dels efectes, ja que poden estar amagant-se efectes en U o creuats. És per

això que s'han aplicat els efectes simples i és a partir d'aquesta anàlisi que nosaltres podem parlar d'independència dels efectes de les hormones tiroïdals.

Aquesta avaluació posa de manifest la implicació de les hormones tiroïdals en l'edat adulta en l'emocionalitat del subjecte. La conducta que els animals mostren en la prova d'interacció social també queda afectada per les alteracions induïdes en el període perinatal. Aquest efecte, com ja s'ha dit, es dona sobre l'activitat que el subjecte mostra, i és lògic que es detecti en la prova d'interacció social ja que entre les pautes conductuals n'hi ha que són d'activitat, com per exemple la deambulació. Aquesta pauta conductual s'ha mantingut separada de les altres deambulacions, analitzades en l'apartat de la conducta individual, perquè pensem que sovint pot estar provocada per la parella amb la qual es realitza la prova. Malgrat sigui una mesura d'activitat i estigui classificada en el grup de les pautes no socials, creiem que per l'estímul elicitor cal que l'anàlisi es realitzi de manera separada.

La implicació de les hormones tiroïdals en l'organisme madur en l'emocionalitat del subjecte queda reflectida en els resultats obtinguts en la prova d'interacció social. D'aquesta manera aquells animals que en l'edat adulta mostren més pautes relacionades en baixa emocionalitat, com són les pautes socials, són els animals que presenten uns nivells normals d'hormones tiroïdals, tal i com queda reflectit en les diferències entre la TC i la TT i entre el MC i el MT. Altres pautes que impliquen baixa emocionalitat i que es poden classificar com a pautes que no impliquen l'altra parella, però que no són tant netament d'activitat com la deambulació, com pot ser la investigació de l'entorn, apareixen en més freqüència quan els nivells hormonals en l'edat adulta són baixos, ja que són les diferències conductuals les que apareixen entre el MC i el MM i entre la TC i la TM. Pel que fa a les pautes no socials que impliquen activitat, com la deambulació, depenen del tractament perinatal seguit, de

Discussió

manera que els augments d'activitat observats són atribuïbles als dèficits d'hormones perinatal.

Pel que fa a l'avaluació conductual, i a manera de resum, dels efectes de les hormones tiroïdals cal destacar que en funció del període de tractament, els efectes es donen en diferents característiques intrínseques dels subjectes. De tal manera que les alteracions produïdes en el període perinatal afectarien aquelles pautes conductuals relacionades amb els aspectes d'activitat i emocionalitat, mentre que les alteracions induïdes en l'edat adulta afectarien aquelles pautes conductuals relacionades amb l'estat del subjecte i que fan referència a l'emocionalitat. Un altre aspecte important és que a partir de l'estudi dels efectes conductuals, podem dir que els efectes activacionals de les hormones tiroïdals són independents dels efectes organitzacionals que tenen aquestes hormones. A més a més, sense oblidar que les alteracions hormonals induïdes poden afectar totes aquelles estructures cerebrals que presentin receptors específics per a les hormones tiroïdals, totes les pautes conductuals afectades per l'alteració tiroïdal, han estat relacionades amb l'hipocamp que, com ja s'ha dit, és una de les estructures cerebrals que presenta una més alta densitat de receptors per a les hormones tiroïdals.

3.4 AVALUACIÓ MORFOLÒGICA

3.4.1 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmica de la rata de 21 dies

Malgrat que el nombre de cèl·lules que han estat estudiades és baix, els resultats obtinguts van en el sentit esperat, però les consideracions que d'ells se'n treguin cal que siguin matitzades en funció de la mida de la mostra.

Les alteracions de la morfologia neuronal induïdes pel tractament en període perinatal

es diferencien en funció del camp hipocàmpic. Aquest fenomen ha estat trobat per altres autors (Rami et al., 1986b; Madeira et al., 1992).

Dels nostres resultats es desprén que les neurones piramidals del camp CA1 són molt més sensibles a l'acció de les hormones tiroïdals durant el període perinatal que no pas les neurones piramidals del camp CA3. El dèficit d'hormones tiroïdals durant el període perinatal provoca que les neurones de la rata de 21 dies del camp CA1 hipocàmpic presentin el neuropil atrofiat, tant en l'arborització basal com en l'apical. A més a més, també provoquen una dràstica reducció en la densitat d'espines dendrítiques en les ramificacions apicals en el camp CA1. En canvi, en les neurones piramidals CA3, els dèficits d'hormones tiroïdals tan sols provoquen un decrement en el nombre de ramificacions basals.

Aquestes dades contradiuen els resultats de Rami et al., (1986b) segons els quals les neurones del camp CA3 són més sensibles a l'acció de les hormones tiroïdals. Els mecanismes subjacents a aquesta diferent susceptibilitat que mostren les neurones piramidals hipocàmpiques no estan identificats encara. Si bé sovint s'argumenta que aquestes diferències poden ésser degudes al decalatge que mostren aquestes neurones en la seva maduració ontogenètica, creiem que aquest argument no el podem aplicar als nostres resultats ja que el nostre període d'afectació comprén tant el període prenatal com el postnatal. Cal tenir present que, les cèl·lules piramidals hipocàmpiques, es comencen a desenvolupar entre els dies 16 i 18 de vida embrionaria i acaben el seu desenvolupament entre la 3^a i 4^a setmana postnatal. Alhora que s'ha mostrat una seqüència de desenvolupament en funció de la seva localització (Bayer, 1985).

Les nostres dades, que es reflecteixen en el grau de ramificació, induïdes per els dèficits d'hormones tiroïdals va en el mateixa línia que les aportades per Madeira et al.

Discussió

(1992) que assenyalen que la manca neonatal d'hormones tiroïdals afecta més al camp CA1, que al camp CA3.

Per altra part, l'excès d'hormones tiroïdals provoca un augment dels punts de ramificació, tant basal com apicals, i de la densitat d'espines dendrítiques apicals de les neurones piramidals del camp CA1. La manca de treballs semblants fa difícil qualsevol apreciació. Malgrat tot, els treballs de Lauder i Mugnaini (1980) i el de Gould et al. (1990c) posen de manifest un augment del nombre de dendrites com a conseqüència de l'administració de tiroxina neonatal. En aquest sentit, les nostres dades corroborarien el fet que el desenvolupament morfològic de les neurones hipocàmiques es veu afectat per l'excès d'hormones tiroïdals.

Com a resum, creiem que els efectes del tractament en període perinatal posen de manifest la sensibilitat que mostren les neurones piramidals dels camps CA1 i CA3 a l'acció de les hormones tiroïdals. I, concretament, la importància que tenen les hormones tiroïdals pel bon desenvolupament morfològic de les neurones piramidals CA1, ja que aquestes neurones semblen més sensibles a la seva acció.

3.4.2 Efectes del tractament perinatal sobre la morfologia hipocàmica de la rata de 90 dies

Tal i com s'ha dit en els resultats, l'estudi realitzat en el camp CA1 permet avaluar l'efecte dels dèficits perinatals d'hormones tiroïdals en la arborització basal, i en el camp CA3 hem pogut analitzar l'avaluació dels efectes com dels excessos d'hormones tiroïdals en període perinatals sobre tota la cèl·lula.

L'avaluació de la morfologia neuronal de la rata de 90 dies, posa de manifest que la morfologia neuronal està alterada inclus després d'un llarg període de temps de recuperació

endocrina (més de 2 mesos).

En el camp CA1, els dèficits perinatals d'hormones tiroïdals provoquen que les neurones presentin una major ramificació basal. Aquesta resultat sembla que sigui contradictori amb els efectes que s'han observat en la rata de 21 dies. Aquesta dada, presumiblement contradictòria ha de ser verificada. Tanmateix, sabem que el dèficit d'hormones tiroïdals neonatal provoca una reducció del nombre de cèl·lules, que no es recupera quan l'animal retorna a l'estat eutiroide (Madeira, et al., 1992). Una possible resposta de l'organisme davant d'aquesta reducció podria ser un augment de les ramificacions per tal de contrarrestar la pèrdua de la densitat de cèl·lules.

En el camp CA3, els resultats posen de manifest que la morfologia neuronal als 90 dies (avaluada a partir de diferents índex) no està afectada pel tractament perinatal amb tiroxina. En canvi si que s'observa un efecte del dèficit d'hormones tiroïdals sobre la ramificació basal, en el sentit que les neurones piramidals del camp CA3 mostren un augment dels punts de ramificació basals al cap de 2 mesos d'haver patit la manipulació endocrina. De nou aquesta dada sembla contradir els efectes observats en l'animal de 21 dies. En aquest cas, l'hipotiroïdisme neonatal no sembla afectar al nombre total de cèl·lules d'aquest camp hipocàmpic, (Madeira et al., 1992). Malgrat tot, pensem que el dèficit d'hormones tiroïdals que hem induït nosaltres és més sever ja que inclou tot el procés de desenvolupament d'aquestes cèl·lules piramidals. Donat que les neurones del camp CA3 queden alterades a nivell de arborització basal pel dèficit perinatal, creiem que aquest augment de ramificació també pot correspondre a un mecanisme de tipus compensatori.

Per altra part, la manca de diferències en l'arborització de les neurones piramidals CA3 entre els animals que en període perinatal han rebut tiroxina i els animals del grup de

control, contradiu clarament els resultats de Gould et al (1990c), que posen de manifest la permanència dels efectes provocats per l'administració neonatal de tiroxina. Per aclarir, creiem que el què cal és avaluar quin és l'efecte del tractament amb tiroxina durant el període perinatal sobre la morfologia de les neurones del camp CA3. Aquesta avaluació, com ja s'ha dit, no s'ha pogut realitzar per manca de neurones.

3.4.3 Efectes del tractament en edat adulta sobre la morfologia hipocàmpica de la rata de 90 dies

La primera cosa que volem resaltar és que l'anàlisi morfològica de l'hipocamp de la rata de 90 dies s'ha realitzat en els mateixos animals que han estat avaluats conductualment. Per aquest motiu, creiem que, malgrat que aquesta ha quedat molt limitada molt per problemes de manca de preparacions amb neurones, i no oblidant que són dades inicials, són resultats que no havien de ser menyspreats.

Tal i com s'ha comentat en l'apartat de resultats, l'estudi de la densitat d'espines dendrítiques no s'ha pogut realitzar per manca de mostres. Però, donades les funcions que s'atribueixen a les espines dendrítiques, pensem que caldrà avaluar-la en un futur.

L'efecte que el tractament en edat adulta té sobre la morfologia de les neurones piramidals hipocàmpiques posa de manifest, un cop més, que les neurones del camp CA1 semblen molt més sensibles a l'acció de les hormones tiroïdals que les neurones del camp CA3, al menys pel que fa a la seva arborització basal. Aquesta vulnerabilitat diferenciada a les hormones tiroïdals que mostren les neurones en els diferents camps de l'hipocamp ha estat descrita per Madeira et al. (1992), els quals han demostrat que l'hipotiroidisme induït en l'edat adulta provoca una disminució del nombre de cèl·lules piramidals de CA1 i no altera

la quantitat de cèl·lules en el camp CA3.

L'efecte del tractament amb tiroxina en edat adulta, que es reflecteix en un augment de dendrites primàries basals, és molt més accentuat del que era esperable. És un resultat que cal confirmar i que la manca de dades comparables fa sigui de difícil apreciació.

L'augment del nombre de punts de ramificació basal que s'observa en les neurones del camp CA1, que provenen d'animals que han rebut methimazole, és una dada sorprenen. És en aquest punt, quan retornem a les dades inicialment contradictòries que han aparegut al llarg d'aquesta discussió. Tant els animals recuperats dels dèficits perinatal d'hormones tiroïdals com aquells animals que han rebut methimazole en edat adulta, presenten unes neurones amb més punts de ramificació basals que les neurones de control. Aquesta dada, replicar-la, però si tenim present que el dèficit d'hormones en edat adulta també provoca una reducció del nombre de cèl·lules en el camp CA1 (Madeira, et al., 1992), la resposta de l'organisme davant d'aquesta reducció podria ser un augment de les ramificacions per tal de contrarrestar la pèrdua de la densitat de cèl·lules. Aquesta possible argumentació ens serviria per explicar el perquè el nombre de punts de ramificació basals, de manera constant, queda alterat pel dèficit d'hormones tiroïdals. Creiem que aquesta argumentació ha d'esser verificada, però que aquest possible mecanisme compensatòri es podria atribuir a la gran plasticitat que sembla mostrar l'hipocamp i explicaria la no alteració d'alguna de les conductes observades (per exemple, l'aprenentatge) en els animals recuperats de l'hipotiroïdisme perinatal.

3.4.3 Efectes de la interacció dels dos tractaments en edat adulta sobre la morfologia hipocàmica de la rata de 90 dies

En funció dels pocs resultats obtinguts, creiem que el valor de les dades és de tipus descriptiu i que qualsevol apreciació seria precipitada.

A manera de resum, l'anàlisi morfomètrica ens indica que les neurones piramidals hipocàmiques dels camps CA1 i CA3 són sensibles a l'acció de les hormones tiroïdals, tant en període perinatal com en edat adulta. Els estats de distiroïdisme que hem induït, tant en període perinatal com en edat adulta, han alterat la morfologia d'aquestes neurones.

Malgrat el nombre d'observacions, creiem que, de manera consistent, es posa de manifest que les neurones piramidals mostren una vulnerabilitat diferenciada a les hormones tiroïdals en els diferents camps de l'hipocamp. En aquest sentit, les neurones piramidals CA1 mostrarien una major sensibilitat a l'acció de les hormones tiroïdals respecte les cèl·lules piramidals CA3, tant durant el desenvolupament com en el cervell madur.

Durant el període perinatal, els estats de dèficits d'hormones tiroïdals induïts provoquen que les neurones CA1 dels animals analitzades als 21 dies presentin un arbre dendrític molt poc desenvolupat i una molt baixa densitat d'espines dendrítiques. En canvi, l'excés d'hormones tiroïdals fa que les neurones CA1 tinguin un arbre dendrític més desenvolupat i presentin una major densitat d'espines dendrítiques quan són avaluades als 21 dies.

Per altra part, creiem que les neurones piramidals hipocàmiques mostren una gran plasticitat, ja que, tot i que havien quedat afectades pel dèficit perinatal d'hormones, les neurones piramidals CA1 han assolit un bon desenvolupament del seu arbre dendrític basal quan els efectes del distiroïdisme perinatal s'avaluen als 90 dies.

CONCLUSIONS

Propòsit A

- El mètode emprat per induir estats de distiroïdisme s'ha mostrat eficaç per provocar alteracions en l'eix tiroïdal, tant en el període perinatal com en l'edat adulta, sense caure en la endocrinopatia severa.

- Hem aconseguit un model experimental que permet induir estats de distiroïdisme i que no implica la manipulació de l'animal, cosa que ens assegura una avaluació conductual pura, sense la contaminació que suposen altres mètodes tals com la tiroïdectomia o les administracions subcutànies.

Propòsit B

- Els efectes de les hormones tiroïdals són diferents en funció del període d'afectació.

- Les alteracions produïdes en el període perinatal afectarien aquelles pautes conductuals relacionades amb trets de l'individu que fan referència a l'activitat i l'emocionalitat.

- Les alteracions induïdes en l'edat adulta afectarien aquelles pautes conductuals relacionades amb l'estat del subjecte i que fan referència a l'emocionalitat.

Conclusions

- Aquestes característiques constitucionals són molt més susceptibles que altres a l'acció de les hormones tiroïdals.

- Els efectes activacionals de les hormones tiroïdals són independents dels efectes organitzacionals que tenen aquestes hormones. És per tot això que podem dir que hem assolit aquest propòsit ja que hem aconseguit una àmplia avaluació dels efectes que les hormones tiroïdals, tant en període perinatal com en edat adulta, tenen sobre les diferències individuals.

Propòsit C

- Les neurones piramidals hipocàmiques dels camps CA1 i CA3 són sensibles a l'acció de les hormones tiroïdals en període perinatal.

- Les neurones piramidals hipocàmiques dels camps CA1 i CA3 són sensibles a l'acció de les hormones tiroïdals en edat adulta.

- Les neurones piramidals CA1 mostrarien una major sensibilitat a l'acció de que CA3 durant el desenvolupament cerebral.

- Les neurones piramidals CA1 mostrarien una major sensibilitat a l'acció de que CA3 en el cervell madur.

- Les neurones piramidals hipocàmiques mostrarien una gran plasticitat: les neurones que havien quedat afectades pel del dèficit perinatal d'hormones (CA1 i CA3) quan són analitzades als 90 dies mostren una major arborització basal.

Finalment, i sense oblidar que les alteracions hormonals induïdes poden afectar totes aquelles estructures cerebrals que presentin receptors específics per a les hormones tiroïdals, totes les pautes conductuals que s'han vist afectades per l'alteració tiroïdal, han estat relacionades amb l'hipocamp que, com ja s'ha dit, és una de les estructures cerebrals que presenta una més alta densitat de receptors per a les hormones tiroïdals.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, J.: Methods in behavioral teratology. En Riley, E.P. i Vorhees, C.V. (Eds): *Handbook of behavioral teratology*. Plenum Press, New York (1986) 67-97
- Adey, W.R. : Neurophysiological correlates of information transaction and storage in brain tissue. En Stellar, E. i Sprague, J.M. (Eds): *Progress in Physiological Psychology*, Vol 1, Academic Press. New York (1966)
- Akase, E; Alkon, D.L.; Disterhoft, J.F.: Hippocampal lesions impair memory of short-delay conditioned eye blink in rabbits. *Behavioral Neuroscience*, 103 (1989) 935-943
- Albee, R.R.; Mattson, J.D.; Johnson, K.A.; Kirk, H.D. Breslin, W.J.: Neurological consequences of congenital hypothyroidism in Fischer 344 rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 11 (1989) 171-183
- Allen, W.F. *American Journal of Physiology*. (1940) Citat per Douglas (1967)
- Altman, J.R.; Brunner, R.L.; Bayer, S.A.: The hippocampus and behavioral maturation. *Behavioral Biology*, 8 (1973) 557-596
- Amaral, D.G.; Witter, M.P.: The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3) (1989) 571-591
- Amaral, D.G.; Ishizuka, N.; Claiborne, B. : Neurons, numbers and the hippocampal network. En Storm-Mathisen, J.; Zimmer, J.; Ottersen, O.P. (Eds): *Understanding the brain through the hippocampus: The hippocampal Region as a Model for Studying Brain Structure and Function*. Progress in Brain Research, Vol 83, Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1990) 1-11

Bibliografia

- Amaral, D.G.; Dolorfo, C.; Alvarez-Royo, P.: Organization of CA1 projections to the subiculum: a PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus*, 1 (1991) 415-435
- Amsel, A.: Hippocampal function in the rat: Cognitive mapping or vicarious trial and error?. *Hippocampus* 3(3) (1993) 251-256
- Amsel, A.: The role of frustrative nonreward in noncontinuous reward situations. *Psychological Bulletin*, 55 (1958) 102-119
- Andersen, P.; Bilss, V.P.; Skrede, K.K.: Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Experimental Brain Research*, 13 (1971) 222-238
- Anderson, O.D. : *American Anat. Mem.*, 19 (1941) 647. Citat per Eayrs (1966)
- Arnold, A.; Gorski, R.: Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annual Review of Neuroscience*, 7 (1984) 413-442
- Attree, E.A.; Sinha, A.K.; Davey, M.J.; Pickard, M.R.; Rose, F.D.; Ekins, R.P.: Effects of maternal hypothyroxinaemia on activity, emotional responsiveness and exploratory behaviour in adult rat progeny. *Med. Sci. Res.*, 20 (1992) 197-199
- Balázs, R.; Brooksbank, B.W.L.; Davison, A.N.; Eayrs, J.T.; Wilson, D.A.: The effect of neonatal thyroidectomy on myelination in the rat brain. *Brain Research*, 15 (1969) 219-232
- Bayer, S.A.: Hippocampal region. En Paxinos, G. (Ed) : *The rat nervous system*. Vol I, Sidney Academic Press, (1985) 335-352
- Behnam-Rassoli, M.; Herbert, L.C.; Howard, V.; Pharoah, P.O.D.; Stainisstreet, M.: Effect of propylthiouracil treatment during prenatal and early postnatal development on the neocortex of rat pups. *Neuroendocrinology*, 53 (1991) 321-327

- Benshalom, G.: Structural alterations of dendritic spines induced by neural degeneration of their presynaptic afferents. *Synapse*, 4 (1989) 210-222
- Berbel, P.J.; Escobar del Rey, F.; Morreale de Escobar, G.; Ruiz-Marcos, A.: Effect of hypothyroidism on the size of spines of pyramidal neurons of the cerebral cortex. *Brain Research*, 337 (1985) 217-223
- Bernal, J.: *Personal communication*, Madrid, September, 1990.
- Boissier, J.R.; Simon, P.: Automisation du test de la Planche à Trous. *Psychol. Behav.*, 2 (1967) 447-448.
- Braak, H.: On the structure of the human archicortex. *Cell. Tiss. Res.*, 152 (1974) 349-383
- Brody, E.B. : *Endocrinology*, 29 (1941) 916. Citat per Eayrs (1966)
- Buzsáki, G.; Horváth, Z.; Urioste, R.; Hetke, J.; Wise, K.: High-frequency network oscillation in the hippocampus. *Science*, 256 (1992) 1025-1027
- Calverley, R.K.S.; Jones, D.G.: Contributions of dendritic spines and perforated synapses to synaptic plasticity. *Brain Research Reviews*, 15 (1990) 215-249
- Cameron, D.L.; Crocker, D.: The hypothyroid rat as a model of increased sensitivity to dopamine receptor agonists. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 37 (1990) 627-632
- Capen, C.C.; Martin, S.L.: The effects of xenobiotics on the structure and function of thyroid follicular and C-cells. *Toxicology Pathology*, 17 (1989) 266-293
- Carlin, R.K.; Siekevitz, P.: Plasticity in the central nervous system. Do synapses divide? *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 80 (1983) 3517-3521

Bibliografía

Carlson, N.R.: *Fisiología de la conducta*. Ariel. Barcelona, (1993)

Carpentier, P.; Lambridis, M.; Blanchet, G.: Early dendritic changes in hippocampal pyramidal neurones (field CA1) of rats subjected to acute soman intoxication: a light microscopic study. *Brain Research*, 541 (1991) 293-299

Cerro del, M.C.R.: Hormonas tiroideas: Desarrollo del sistema nervioso y conducta. In Segovia, S. y Guillamón, A. (ed): *Psicobiología del desarrollo*, Ariel. Barcelona (1988) 53-79

Chan-Palay, V.; Palay, S.L.; Billings-Gagliardi, S.M.: Meynert cells in the primate visual cortex. *Journal of Neurocytology*, 3 (1974) 631-658

Chen, C.S.; Fuller, J.L.: Neonatal thyroxine administration, behavioral maturation, and brain growth in mice of different brain weight. *Developmental Psychobiology*, 8(4) (1975) 355-361

Chicurel, M.E.; Harris, K.M.: Three-dimensional analysis of the structure and composition of CA3 branched dendritic spines and their synaptic relationships with mossy fiber boutons in the rat hippocampus. *The Journal of Comparative Neurology*, 325 (1992) 169-182

Cloninger, C.R.: Neurogenetic adaptive mechanisms in alcoholism. *Science*, 236 (1987) 410-416

Cohen, R.S.; Chung, S.K.; Pfaff, D.W.: Immunocytochemical localisation of actin in dendritic spines of the cerebral cortex using colloidal gold as a probe. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 5 (1985) 271-284

Comer, C.P.; Norton, S.: Effects of perinatal methimazole exposure on a developmental test battery for neurobehavioral toxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 63 (1982) 133-141

- Comer, C.P.; Norton, S. : Early development in the caudate and thyroid of Methimazole-treated rats. *NeuroToxicology*, 6 (1985) 25-36
- Comer, C.P.; Norton, S.: Behavioral consequences of perinatal hypothyroidism in postnatal and adult rats. *Pharmacology Biochemistry & Behaviour*, 22 (1985) 605-611
- Coss, R.G.: The function of dendritic spines: a review of theoretical issues. *Behavioral & Neural Biology*, 44 (1985) 151-185
- Coulombe, P.; Ruel, J.: Mechanism of action of thyroid hormones. In Dussault, J.M. and Walker, P. (ed): *Congenital hypothyroidism*, Marcel Dekker, Inc. New York (1983) 37-61
- Crick, F.: Do dendritic spines twitch? *Trends in Neurosciences*, 2 (1982) 44-46
- Crisler, G.; Booher, W.T.; Van Liere, E.J.; Hall, J.C.: *American Journal of Physiology*, 103 (1933) 311. Citat per Eayrs (1966)
- Crocker, A.D.; Overstreet, D.H.; Crocker, J.M.: Hypothyroidism leads to increased dopamine receptor sensitivity and concentration. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 24 (1986) 1593-1597
- Crusio, W.E.; Schwegler, H.: Early postnatal hyperthyroidism improves both working and reference memory in a spatial radial-maze task in adult mice. *Physiology and Behavior*, 50 (1991) 259-261
- Davenport, J.W.; Dorsey, T.P.: Hypothyroidism: Learning deficit induced in rats by early exposure to thiouracil. *Hormones and Behavior*, 3 (1972) 97-112
- Davenport, J.W.; Gonzalez, L.M.: Neonatal thyroxine stimulation in rats: accelerated behavioral maturation and subsequent learning deficit. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 85(2) (1973) 397-408

Bibliografia

- Davenport, J.W.; Hagquist, W.W.; Hennies R.S.: Neonatal hypothyroidism: naturational acceleration and learning deficit in triiodothyroinine stimulated rats. *Physiol. Psychol.*, 3 (1975) 231-236
- Davenport, J.W.; Hennies, R.S.: Perinatal hypothyroidism in rats: persistent motivational and metabolic effects. *Developmental Psychobiology*, 9 (1976) 67-82
- Davenport, J.W.; Gonzalez, L.M.; Hennies, R.S.; Hagquist, W.W.: Severity and timing of early thyroid deficiency as factor in the induction of learning disorders in rats. *Hormones and Behavior*, 7 (1976) 139-157
- Denenberg, V.H. : *Journal of Comparative Physiology and Psychology*, 51 (1958) 213.
- Desmond, N.L.; Levy, W.B.: Synaptic correlates of associative potentiation/depression: an unestructural study in the hippocampus. *Brain Research*, 265 (1983) 21-30
- Douglas, R.J.: The hippocampus and behavior. *Psychological Bulletin*, 67 (6) (1967) 416-442
- Douglas, R.J.: Pavlovian conditioning and the brain. En Boakes, R.J. i Halliday, M.S. (Eds) : *Inhibition and learning*. Academic press. London (1972)
- Douglas, R.J.; Pribram, K.: Learning and limbic lesions. *Neuropsychologia*, 4 (1966) 197-220
- Dussault, J.H.: The developing fetal thyroid gland and the maternal fetal placental unit. En Dussault, J.M. and Walker, P. (ed): *Congenital hypothyroidism*, Marcel Dekker, Inc. New York (1983) 3-9
- Dussault, J.H.; Ruel, J.: Thyroid hormones and brain development. *Annual Review of Physiology*, 49 (1987) 321-334

- Eayrs, J.T.: The cerebral cortex of normal and hypothyroid rats. *Acta anatomica.*, 25 (1955) 160-183
- Eayrs, J.T.: Influence of the thyroid on the central nervous system. *British Medical Bulletin*, 16 (1960) 122-127
- Eayrs, J.T.: Protein anabolism as a factor ameliorating the effects of early thyroid deficiency. *Growth*, 25 (1961) 175-189
- Eayrs, J.T.: Thyroid and central nervous development. *Scientific Basis of Medicine Annual Reviews*, (1966) 317-339
- Eayrs, J.T.: Developmental relationships between brain and thyroid. In R.P. Michael (Ed): *Endocrinology and Human Behaviour*. Oxford University Press, London, (1968) 239-255
- Eayrs, J.T.; Lishman, W.A.: The maturation of behavior in hypothyroidism and starvation. *British Journal of Animal Behaviour*, 3 (1955) 17-24
- Eichenbaum, H.; Fagan, A.; Cohen, N.J.: Normal olfactory discrimination learning set and facilitation of reversal learning after combined and separate lesions of the fornix and amygdala in rats: implications for preserved learning in amnesia. *The Journal of Neuroscience*, 6 (1986) 1876-1884
- Eichenbaum, H.; Stewart, C.; Morris, R.G.M.: Hippocampal representation in place learning. *The Journal of Neuroscience*, 10(11) (1990) 3531-3542
- Eichenbaum, H.; Fagan, A.; Mathews, P.; Cohen, N.J.: Hippocampal system dysfunction and odor discrimination: impairment or facilitation depending on cognitive strategies. *Behavioral Neurosciences*, 102 (1988) 331-339

Bibliografia

- El Hachimi, K.H.; Foncin, J.F.: Perte des espines dendritiques dans la maladie d'Alzheimer. *Neurobiol. C.R. Acad. Sci. Paris* 311 (1990) 397-402
- Emlen, W.; Segal, D.S.; Mandell, A.J.: Thyroid state: effects on pre- and postsynaptic central noradrenergic mechanisms. *Science*, 175 (1972) 79-82
- Englisch, H.J.; Kung, G.; Wenzel, J (1974). Citat per Horner, C.H. (1993)
- Engström, G.; Svensson, T.H.; Waldeck, B.: Thyroxine and brain catecholamines: increased transmitter synthesis and increased receptor sensitivity. *Brain Research*, 77 (1974) 471-483
- Essman, W.B.; Mendoza, L.A.; Hamburgh, M.: Critical periods of maze acquisition development in euthyroid and hypothyroid rodents. *Psychological Reports*, 23 (1968) 795-800
- Feder, H.H.: Hormones and sexual behavior. *Annual Review of Psychology*, 35 (1984) 165-200
- Fifková, E.; van Harreveld, A.: Long-lasting morphological changes in dendritic spines of dentate granular cells following stimulation of the entorhinal area. *Journal of Neurocytology*, 6 (1977) 211-230
- File, S.E.: The validation of animal tests of anxiety. Pharmacological implications. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, 36 (1984) 505-512
- File, S.E.; Hyde, J.R.G. Can social interaction be used to measure anxiety? *British Journal of Pharmacology*, 62 (1979) 19-24.
- Fisher, D.A.; Polk, D.H.: Development of the thyroid. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 3(3) (1989) 627-657

- Ford, D.H.; Cramer, E.B. : Developing nervous system in relation to thyroid hormones. En Grave, G.D.(Ed) *Thyroid hormones and brain development* Raven Press, New York (1977) 1-19
- Fundaro, A.: Behavioral modifications in relation to hypothyroidism and hyperthyroidism in adult rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 13 (1989) 927-940
- Fundarò, A.; Molinengo, L.: Emotional behaviour in relation to hypothyroidism and hyperthyroidism in the rat. *Medical Sciences Research*, 15 (1987) 253-254
- Gabbott, P.L. ; Somogyi, J.: The 'single' section Golgi impregnation procedure: methodological description. *Journal of Neuroscience Methods*, 11 (1984) 221-230
- Gaffan, D. : Loss of recognition memory in rats with lesions of the fornix. *Neuropsychologia*, 10 (1972) 327-341
- García-Sevilla, L.: Extraversion and neuroticism in rats. *Personality and Individual Differences*, 5 (1984) 511-532
- Gershengorn, M.C.: Thyrotropin releasing hormone stimulation of pituitary hormone secretion. *Annual Review of Physiology*, 48 (1986) 515-526
- Globus, A.; Rosenzweig, M.R.; Bennett, E.L.; Diamond, M.: Effects of differential experience on dendritic spine counts in rat cerebral cortex. *Journal of Comparative Physiology and Psychology*, 82 (1973) 175-181
- Golgi, C.: Sulla struttura della sostanza grigia dell cervello. *Gassetta Medica Italiana Lombarda* (1873). Citat per Horner (1993)

Bibliografia

- Goldstein, L.A.; Kurz, E.M.; Sengelaub, D.R.: Androgen regulation of dendritic growth and retraction in the development of a sexually dimorphic spinal nucleus. *The Journal of Neuroscience*, 10(3) (1990) 935-946
- Gordon, B.H.J.; Wong, G.Y.; Liu, J.; Rivlin, R.S.: Abnormal taste preference for saccharin in hypothyroid rats. *Physiology and Behavior*, 52 (1992) 385-388
- Gould, E.; Allan, M.D.; Mc Ewen, B.S.: Dendritic spine density of adult hippocampal pyramidal cells is sensitive to thyroid hormone. *Brain Research*, 525 (1990a) 327-329
- Gould, E.; Frankfurt, M.; Westlind-Danielsson, A.; McEwen, B.S.: Developing forebrain astrocytes are sensitive to thyroid hormone. *GLIA*, 3 (1990b) 283-292
- Gould, E.; Westlind-Danielsson, A.; Frankfurt, M.; McEwen, B.S.: Sex differences and thyroid hormone sensitivity of hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Neuroscience*, 10(3) (1990c) 996-1003
- Gould, E.; Woolley, C.S.; McEwen, B.S.: The hippocampal formation: morphological changes induced by thyroid, gonadal and adrenal hormones. *Psychoneuroendocrinology*, 16(1-3) (1991) 67-84
- Grant, E.G ; Mackintosh, J.H.: A comparison of the social postures of some common laboratory rodents. *Behaviour*, 21 (1963) 246-259
- Grastyan, E.; Lissak, K.; Madarasz, I.; Donhoffer, H.: Hippocampal electrical activity during the development of the conditioned reflexes. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 11 (1959) 409-430
- Gray, E.G.: Rehabilitating the dendritic spine. *Trend in Neuroscience*, 5 (1982) 5-6

- Gray, J.A.: Multiple book review of the neuropsychology of anxiety: an inquiry into the functions of the septo-hippocampal system. *Behavioral and Brain Sciences*, 5 (1982) 469-534
- Gray, J.A.; Feldon, J.; Rawlins, J.N.P.; Owen, S.; McNaughton, N.: The role of the septo-hippocampal system and its noradrenergic afferents in behavioral responses to non-reward. En *Functions of the septo-hippocampal system*. Ciba Foundation Symposia. Amsterdam (1978)
- Green, J.D.; Arduini, A. *Journal of Neurophysiology*. (1954) Citat per Douglas (1967)
- Hall, V.E.; Lindsay, M.: The relation of the thyroid gland to the spontaneous activity of the rat. *Endocrinology*, 22 (1938) 66-72
- Hamlyn, L.H.: The fine structure of the mossy fibers endings in the hippocampus of the rabbit. *Journal of Anatomy, London*, 96 (1962) 112-120
- Harris, K.M.; Stevens, J.K.: Dendritic spines of CA1 pyramidal cells in the rat hippocampus: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *The Journal of Neuroscience*, 9(8) (1989) 2982-2997
- Hebb, O.D.: *The Organization of the Behaviour*. Willey & Sons Ed, New York (1949)
- Hendrich, C.E.; Jackson, W.J.; Porterfield, S.P.: Behavioral testing of progenies of Tx (hypothyroid) and growth hormone-treated Tx rats: an animal model for mental retardation. *Neuroendocrinology*, 38 (1984) 429-437
- Hetzel, B.S.; Chavadej, J.; Potter, B.J.: Annotation the brain in iodine deficiency. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 14 (1988) 93-104
- Hirsh, R. : The hippocampus and contextual retrieval of information from memory: a theory. *Behavioral Biology*, 12 (1974) 421-444

Bibliografia

- Horner, C.H.: Plasticity of the dendritic spine. *Progress in Neurobiology*, 41 (1993) 281-321
- Horner, C.H.; Arbuthnott, E.: Methods of estimation of spine density. Are spines evenly distributed throughout the dendritic field?. *Journal of Anatomy*, 177 (1991) 179-184
- Horner, C.H.; O'Regan, M.; Arbuthnott, E.: Neural plasticity of the hippocampal CA1 pyramidal cells. Quantitative changes in spine density following handling and injections for drug testing. *Journal of Anatomy*, 174 (1991) 229-238
- Iglesias, R: Efectos secuenciales de la administración crónica de TRH sobre la función adenohipofisaria, modulación por hormonas. *Tesi doctoral no publicada*, Universitat de Barcelona, Barcelona, 1983.
- Isaacson, R.L. : Neural systems of the limbic brain and behavioral inhibition. En Boakes, R.A. i Halliday. M.S. (Eds) : *Inhibition and learning*. Academic Press. London (1972)
- Johansen, K.; Andersen, A.N.; Kampmann, J.P.; Hansen, J.M. Mortensen, H.B.: Excretion of methimazole in human milk. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 23 (1982) 339-341
- Johanson, I.B.: Development of olfactory and thermal responsiveness in hypothyroid and hyperthyroid rat pups. *Developmental Psychobiology*, 13(3) (1980) 343-351
- Johanson, I.B.; Turkewitz, G.; Hamburg, M.: Development of home orientation in hypothyroid and hyperthyroid rat pups. *Developmental Psychobiology*, 13 (1980) 331-342
- Jones, E.G.; Powell T.P.S.: Morphological variation in the dendritic spines of neocortex. *Journal of Cellular Sciences*, 5 (1969) 509-529

- Jordan T.C.; Howells, K.F.; Cane, S.E.: Hippocampal and spatial memory deficits resulting from early undernutrition. En DiBenedetta, R.; Balazs, R.; Gombos, G.; Porcellati, G. (Eds): *Multidisciplinary approach to brain development*. Elsevier Eds, New York (1980) 347-348
- Kalaria, R.N.; Prince, A.K.: Effects of thyroid deficiency on the development of cholinergic, gaba, dopaminergic and glutamate neuron markers and DNA concentrations in the rat corpus striatum. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 3(6) (1985) 655-666
- Kimble, D.P.: Hippocampus and internal inhibition. *Psychological Bulletin*, 70 (1968) 285-295
- King, M.A.; Hunter, B.E.; Walker, D.W.: Alterations and recovery of dendritic spine density in the rat hippocampus following long-term ethanol ingestion. *Brain Research*, 459 (1988) 381-385
- Kleitman, N.; Teitelbaum, S. : The effect of thyroid administration upon the differentiating ability of dogs. *American Journal of Physiology*, 115 (1936) 162-167
- Kluver, H.; Bucy, P.C. *Archives of Neurology and Psychiatry*. (1939) Citat per Douglas (1967)
- Koch, C.; Zador, A.; Brown, T.H.: Dendritic spines: convergence of theory and experiment. *Science*, 256 (1992) 973-974
- Konorski, J. *Conditioned reflexes and neuron organization*. Citat per Schmajuk (1984).
- Kornhuber, H.H.: Neural control of inputs into long term memory: limbic system and amnesic syndrome in man. En Zippel, H.P. (Ed) : *Memory and transfer of information*. Plenum Pres. New York (1973)

Bibliografia

- Kunz, G.; Englisch, J.H.; Wenzel, J. (1976) Citat per King et al. (1988)
- Laatsch, R.; Cowan, W.M.: Electron microscopic studies of the dentate gyrus of the rat. I. Normal structure with special reference to synaptic organization. *Journal of Comparative Neurology*, 128 (1966) 359-396
- Lauder, J.M.; Mugnaini, E.: Early hyperthyroidism alters the distribution of mossy fibers in rat hippocampus. *Nature*, 268 (1977) 335-337
- Lauder, J.M.; Mugnaini, E.: Infrapyramidal mossy fibers in the hippocampus of the hyperthyroid rat. *Developmental Neuroscience*, 3 (1980) 248-265
- Legrand, J.: Hormones thyroïdiennes et maturation de système nerveux. *Journal of Physiology (Paris)* 78 (1982-1983) 603-652
- Lee, K.; Standford, E.J.; Cotman, C.W.; Lynch, G.S.: Ultrastructural evidence for bouton proliferation in the partially deafferented dentate gyrus of the rat. *Experimental Brain Research*, 129 (1977) 475-485
- Lee, K.; Dunwiddeie, T.; Deitrich, R.; Lynch, G.; Hoffer, B.: Chronic ethanol consumption and hippocampal neuron dendritic spines: A morphometric physiological analysis. *Experimental Neurology*, 71 (1981) 541-549
- Lescaudron, L.; Jaffard, R.; Verna, A.: Modifications in number and morphology of dendritic spines resulting from chronic ethanol consumption and withdrawal: a Golgi study in the mouse anterior and posterior hippocampus. *Experimental Neurobiology*, 106 (1989) 156-163
- Liddell, H.S.; Bayne, T.L. : *Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.*, 24 (1926) Citat per Eyars (1966)
- Lipp, H.-P.; Schwegler, H.: Hippocampal mossy fibers and avoidance learning. En Liebllich, I. (Ed): *Genetics of the brain*. Elsevier Ed, Amsterdam (1982) 325-364

- Lipp, H.-P., Schwegler, H.; Driscoll, P.: Infrapyramidal mossy fibers and two-way avoidance learning: developmental modification of hippocampal circuitry and behavior of rats and mice. *The Journal of Neuroscience*, 8 (1988) 1905-1921.
- Lorente de Nó, R.: Studies on the structure of the cerebral cortex. II Continuation of the study of the ammonic system. *Journal of Psychological Neurology*, 46 (1934) 113-177
- Luria, A.R.: *Human Brain and Psychological Processes*. Harper and Row. New York i London (1966)
- Lynch, G.; Gall, C.; Cotman, C.W.: Temporal parameters of axon 'sprouting' in the brain of the adult rat. *Experimental Neurology*, 54 (1977) 179-183
- Maayan, M.L.; Volpert, E.M.; Debons, A.F.: Neurotransmitter regulation of thyroid activity.
- Madeira, M.D.; Paula-Barbosa, M.M.; Cadete-Leite, A.; Tavares, M.A. : Unbiased estimate of hippocampal granule cell number in hypothyroid and in sex-age-matched control rats. *Journal Hirnforsch*, 29 (1988) 643-650
- Madeira, M.D.; Cadete-Leite, A.; Sousa, N.; Paula-Barbosa, M.M.: The supraoptic nucleus in hypothyroid and undernourished rats: an experimental morphometric study. *Neuroscience*, 41(2/3) (1991) 827-839
- Madeira, M.D.; Cadete-Leite, A.; Andrade, J.P.; Paula-barbosa, M.M.: Effects of hypothyroidism upon the granular layer of the dentate gyrus in male and female adult rats: a morphological study. *The Journal of Comparative Neurology*, 314 (1991) 171-186

Bibliografia

- Madeira, M.D.; Sousa, N.; Lima-Andrade, M.T.; Calheiros, F.; Cadete-Leite, A.; Paula-Barbosa, M.M.: Selective vulnerability of the hippocampal pyramidal neurons to hypothyroidism in male and female rats. *The Journal of Comparative Neurology*, 322 (1992) 501-518
- Maggi, A.; Perez, J.: Role of gonadal hormones in the CNS: Clinical and experimental aspects. *Life Sciences.*, 37 (1985) 893-906
- Mann, C. W. : Learning in relation to hyperthyroidism in the white rat. *Journal of Comparative Psychology*, 34 (1942) 251-261
- Männistö, P.T.: Central regulation of thyrotropin secretion in rats: methodological aspects, problems and some progress. *Medical Biology*, 61 (1983) 92-100
- Marchant, B.; Brownlie, B.E.; McKay-Hart, D.; Horton, P.W.; Alexander, W.D.: The placental transfer of propylthiouracil, methimazole and carbimazole. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 45 (1977) 1187-1193
- Marin-Padilla, M.: Number and distribution of the apical dendritic spines of the layer V pyramidal cells in man. *Journal of Comparative Neurology*, 131 (1967) 475-490
- Marin-Padilla, M.; Stibitz, G.R.: Distribution of the apical dendritic spines of the layer V pyramidal cells of the hamster neocortex. *Brain Research*, 11 (1968) 580-592
- Martí-Carbonell, M.A.; Garcia-Sevilla, L.: Individual differences in interspecific aggressiveness: mouse-killing in rats after isolation. *Personality and Individual Differences*, 6 (1985) 479-484.
- McEven, B.S.; Gould, E.: Adrenal steroid on the survival of hippocampal neurons. *Biochemical Pharmacology*, 40(11) (1990) 2393-2402
- Minkwitz, H.-G. (1976). Citat per Horner, C.H. (1993)

- Moisier, H.D.Jr.; Dearden, L.C.; Janson, R.A.; Hill, R.R. : Growth hormone, somatomedin and cartilage sulfation in failure of catch-up growth after propylthiouracil-induced hypothyroidism in the rat. *Endocrinology*, 100 (1977) 1644-1651
- Moore, J.W.: Brain processes and cognition. En Dickinson, A. I Boakes, R.A.(Eds): *Mechanisms of learning and behavior*. Erlbaum. Hillsdale NJ (1979)
- Moore, J.W.; Stickney, K.J. : Goal tracking in attentional-associative networks: spatial learning and the hippocampus. *Physiological Psychology*, 8 (1980) 207-217
- Morgan, M.J.; Einon, D.F.: Activity and exploration in thyroid deficient and isolated rats. *Physiology & Behavior*, 16(107) (1976) 107-110
- Morreale de Escobar, G.; Obregon, M.J.; Ruiz de Oña, C.; Escobar del Rey, F : Transfer of thyroxine from the mother to the rat fetus near term : effects on brain 3,5, 3' triiodothyronine deficiency. *Endocrinology*, 122 (1988) 1521-1531
- Morreale de Escobar, G.; Ruiz-Marcos, A.; Escobar del Rey, F.: Thyroid hormone and the developing brain. In Dussault, J.M. and Walker, P. (ed): *Congenital hypothyroidism*, Marcel Dekker, Inc. New York (1983) 85-125
- Muma, N.A.; Rowell, P.P.: Effects of chronic choline and lecithin on mouse hippocampal dendritic spine density. *Experimental Aging Research*, 14 (1988) 137-141
- Myhrer, T.: Exploratory behavior and reaction to novelty in rats with hippocampal perforant path system disrupted. *Behavioral Neuroscience*, 102 (1988) 356-362
- Neck, N.; Schwegler, H.; Crusio, W.E.; Frotscher, M.: Are the fine-structural characteristics of mouse hippocampal mossy fiber synapses determined by the density of mossy fiber axons? *Neuroscience Letters*, 158 (1993) 75-78

Bibliografia

- Nicho, J.L.; Alt, J.: Synaptogenesis in the rat cerebellum: effects of early hypo- and hiperthyroidism. *Science*, 176 (1972) 530-532
- Nilsson, O.R.; Karlberg, B.E.: Thyroid hormones and the adrenergic nervous system. *Acta Medica Scandinava (suppl)*, 672 (1983) 27-32
- Nunez, J.: Effects of thyroid hormones during brain differentiation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 37 (1984) 125-132
- Nunez, J.; Couchie, D.; Aniello, F.; Bridoux, A.M.: Regulation by thyroid hormone of microtubule assembly and neuronal differentiation. *Neurochemical Research*, 16(9) (1991) 975-982
- Obregon, M.J.; Mallol, J.; Pastor, R.; Morreale de Escobar, G.; Escobar del Rey, F.: L-Thyroxine and 3,3',5-triiodo-L-thyronine in rat embryos before onset of fetal thyroid function. *Endocrinology*, 114 (1984) 305-307
- O'Keefe, J.; Nadel, L. : *The hippocampus as cognitive map*. Oxford. Claredon University Press (1978)
- Olton, D.S.: Spatial memory. *Scientific American*, 236 (1977) 82-98
- Olton, D.S.; Becker, J.T.; Handelmann, E.: Hippocampus, space and memory. *Behavioral and Brain Sciences*, 2 (1979) 313-366
- Oppenheimer, J.H.: Thyroid hormone action at the cellular level. *Science*, 203 (1979) 971-979
- Osuna, C.; Orta, J.M.; Rubio, A.; Molinero, P.; Guerrero, J.M.: Thyroxine type II 5'-deiodinase activity in pineal and harderian gland is enhanced by hypothyroidism but is independent of serum thyroxine concentrations during hyperthyroidism. *Internationa Journal of Biochemistry*, 25(7) (1993) 1041-1046

- Patel, S.N.; Stewart, M.G.: Changes in the number and structure of dendritic spines 25 hours after passive avoidance training in the domestic chick, *Gallus domesticus*. *Brain Research*, 449 (1988) 34-46
- Paula-Barbosa, M.M.; Tavares, M.A.; Ruela, C.; Matos-Lima, L.; Gray, E.G.: Thyroidectomy induces coated pit formation on cerebellar mossy fibers terminals. *Cell Tissue Research*, 239 (1985) 627-631
- Paxinos, G. i Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Sidney: Academic Press
- Pellow, S.; Chopin, P.; File, S.E.; Briley, M.: Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14 (1985) 149-167
- Pellow, S.; File, S.E.: Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, 24 (1986) 525-529
- Pelton, E.W.; Bass, N.H.: Adverse effects of excess thyroid hormone on the maturation of rat cerebrum. *Archives of Neurology*, 29 (1973) 145-150
- Penfield, W.; Milner, B. *Archives of Neurology and Psychiatry* (1958) Citat per Douglas (1958)
- Peters, A.; Kaiserman-Abramo, I.R.: The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The perikaryon, dendrites and spines. *Journal of Anatomy*, 127 (1970) 321-356
- Peters, A.; Proskauer, C.C.; Kaiserman-Abramo, I.R.: The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The axon hillock and initial segment. *Journal of Cellular Biology*, 39 (1968) 604-619

Bibliografia

- Pokorny, J.; Trojan, S.: Chronic changes in the receptive field of the pyramidal cells of the rat hippocampus after intermittent postnatal hypoxia. *Physiological Bohemoslov.*, 32 (1983) 393-402
- Port, R.L.; Mikhail, A.A.; Patterson, M.M.: Differential effects of hippocampectomy on classically conditioned rabbit nictitating membrane response related to interstimulus interval. *Behavioral Neuroscience*, 99 (1985) 200-208
- Port, R.L.; Parsons, P.W.; Curtis, K.S.; Seybold, K.S.: Limbic networks and associative learning: I. Entorhinal contributions to instrumental conditioning. *Current Psychology: Research & Reports*, 9(4) (1990-91) 323-332
- Potier, B.; Rascol, O.; Jazat, F.; Lamour, Y.; Dutar, P.: Alterations in the properties of hippocampal pyramidal neurons in the aged rat. *Neuroscience*, 48(4) (1992) 793-806
- Pribram, K.H.; Isaacson, R.L.: Summary. En Isaacson, R.L. i Pribram, K.H. (Eds). *The hippocampus*. Oxford University Press. New York (1975)
- Purpura, D.P.: Dendritic spine 'dysgenesis' and mental retardation. *Science*, 186 (1974) 1126-1128
- Puymirat, J.: Effects of dysthyroidism on central catecholaminergic neurons. *Neurochemistry International*, 7(6) (1985) 969-977
- Puymirat, J.: Thyroid receptors in the rat brain. *Progress in Neurobiology*, 39 (1992) 281-294
- Rabie, A.; Patel, A.J.; Clavel, M.C.; Legrand, J.: Effect of thyroid deficiency on the growth of the hippocampus in the rat. *Developmental Neuroscience*, 2 (1979) 183-194

- Rami, A.; Rabie, A.: Delayed synaptogenesis in the dentate gyrus of the thyroid-deficient developing rat. *Developmental Neuroscience.*, 12 (1990) 398-405
- Rami, A.; Rabie, A.; Patel, A.J.: Thyroid hormone and development of the rat hippocampus: cell acquisition in the dentate gyrus. *Neuroscience*, 19 (4) (1986a) 1207-1216
- Rami, A.; Rabie, A.; Patel, A.J.: Thyroid hormone and development of the rat hippocampus: morphological alterations in granule and pyramidal cells. *Neuroscience*, 19 (4) (1986b) 1217-1226
- Rami, A.; Kriegstein, J.: Thyroxine attenuates hippocampal neuronal damage caused by ischemia in the rat. *Life Sciences*, 50 (1992) 645-650
- Ramon y Cajal, S.: *Histologie de Système Nerveux de l'Homme et des Vertèbres*. Vol II, Maloine, Paris (1911)
- Rastogi, R.B.; Singhal, R.L.: Influence of neonatal and adult hyperthyroidism on behavior and biosynthetic capacity for norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine in rat brain. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 198(3) (1976) 609-618
- Rastogi, R.B.; Singhal, R.L.: Effects of neonatal hypothyroidism and delayed L-triiodothyronine treatment on behavioural activity and norepinephrine and dopamine biosynthetic systems in discrete regions of rat brain. *Psychopharmacology*, 62 (1979) 287-293
- Rastogi, R.B.; Lapierre, Y.; Singhal, R.L.: Evidences of the role of brain biogenic amines in depressed motor activity seem in chemically thyroidectomized rats. *Journal of Neurochemistry*, 26 (1976) 443-449
- Rickey, E.: *Comp. Psychol. Monogr.*, 2(12) (1925). Citat per Eayrs (1966)

Bibliografia

- Riley, J.N.; Walker, D.W.: Morphological alterations in the hippocampus after long-term alcohol consumption in mice. *Science*, 201 (1978) 646-648
- Rockwell; J.G.: *Psychological Bulletin*, 28 (1931) 222. Citat per Eayrs (1966)
- Rognoni, J.B.; Lemarchand-Béraud, Th.; Berthier, C.: Respectives roles of circulating T₄ and T₃ in control of TSH secretion in severely iodide-deficient rats. *Experientia*, 40 (1984) 215-217
- Ruiz-Marcos, A.; Sanchez-Toscano, F.; Escobar del Rey, F.; Morreale de Escobar, G.: Severe hypothyroidism and the maturation of the rat cerebral cortex. *Brain Research*, 162 (1982) 315-329
- Ruiz-Marcos, A.; Salas, J.; Sanchez-Toscano, F.; Escobar del Rey, F.; Morreale de Escobar, G.: Effects on neonatal and adult-onset hypothyroidism on pyramidal cells of the rat auditory cortex. *Develop. Brain Research.*, 9 (1983) 205-213
- Ruiz-Marcos, A; Cartagena Abella, P.; García García, A.; Escobar del Rey, F.; Morreale de Escobar, G.: Rapid effects of adult-onset hypothyroidism on dendritic spines of pyramidal cells of the rat cerebral cortex. *Experimental Brain Research*, 73 (1988) 583-588
- Ryugo, D.K.; Ryugo, R.; Globus, A.; Killackey, H.P.: Increased spine density in auditory cortex following visual or somatic deafferentation. *Brain Research*, 90 (1975) 143-146
- Samuels, H.H.; Forman, B.M.; Horowitz, Z.D.; Ye, Z.S.: Regulation of gene expression by thyroid hormone. *Journal of Clinical Investigation*, 81 (1988) 957-967
- Sanchez-Andres, J.V.; Olds, J.L.; Alkon, D.L.: Gated informational transfer within the mammalian hippocampus: a new hypothesis. *Behavioural Brain Research*, 54 (1993) 111-116

- Sandrini, M.; Marrama, D.; Vergoni, A.V.; Bertolini, A.: Effects of thyroid status on the characteristics of α_1 -, α_2 -, beta, imipramine and GABA receptors in the rat brain. *Life Sciences*, 48 (1991) 659-666
- Savage, D.D.; Otero, M.A.; Montano, C.Y.; Razani-Boroujerdi, S.; Paxton, L.L.; Kasarskis, E.: Perinatal hypothyroidism decreases hippocampal mossy fiber zinc density in rats. *Neuroendocrinology*, 55 (1992) 20-27
- Schalock, R.L.; Brown, W.J.; Smith, R.L.: Neonatal hypothyroidism: Behavioral, thyroid hormonal and neuroanatomical effects. *Physiology & Behavior*, 19 (1977) 489-491
- Schalock, R.L.; Brown, W.J.; Smith, R.L.: Long-term effects of propylthiouracil induced neonatal hypothyroidism. *Developmental Psychobiology*, 12 (1979) 187-199
- Schapiro, S.: Some physiological, biochemical, and behavioral consequences of neonatal hormone administration: Cortisol and thyroxine. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 10 (1968) 214-228
- Scheibel, M.E.; Crandall, P.H.; Scheibel, A.B.: The hippocampal-dentate complex in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 15 (1974) 55-80
- Scheibel, M.E.; Lindsay, R.D.; Tomiyasin, U.; Scheibel, A.B.: Progressive dendritic changes in aging human cortex. *Experimental Neurology*, 47 (1975) 392-403
- Schinheit, B.; Haensel, P.: Effect of nonspecific malnutrition on spine morphology of lamina V pyramidal cells of the cingulate area of juvenile and adult rats. *Journal Hirnforsch.*, 25 (1984) 617-631
- Schmajuk, N.A.: Psychological theories of hippocampal function. *Physiological Psychology*, 12(3) (1984) 166-183

Bibliografía

- Schmajuk, N.A.; Moore, J.W.: The hippocampus and the classically conditioned nictitating membrane response: A real-time attentional-associative model. *Psychobiology*, 16 (1988) 20-35
- Schwegler, H.; Lipp, H.-P.: Is there a correlation between hippocampal mossy fibers distribution and two-way avoidance performance in mice and rats?. *Neuroscience Letters*, 23 (1981) 25-30
- Schwegler, H.; Lipp, H.-P.: Hereditary covariations of neuronal circuitry and behavior: correlations between the proportions of hippocampal synaptic fields in the regio inferior and two-way avoidance in mice and rats. *Behavioral Brain Research*, 7 (1983) 297-305
- Schwegler, H.; Crusio, W.E.; Lipp, H.-P.; Brust, I.; Mueller, G.G.: Early postnatal hyperthyroidism alters hippocampal circuitry and improves radial-maze learning in adult mice. *The Journal of Neuroscience.*, 11 (1991) 2102-2106
- Schwegler, H.; Lipp, H.-P.; Van der Loos, H.; Buselmaier, W.: Individual hippocampal mossy fibers distribution in mice correlates with two-way avoidance performance. *Science*, 214 (1981) 817-819
- Scoville, W.B.; Milner, B.: Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurological psychiatry*, 20 (1957) 11-21
- Segovia, S.; Guillamón, A.: Introducción. In Segovia, S. and Guillamón, A. (ed): *Psicobiología del desarrollo*, Ariel. Barcelona (1989) 13-16
- Sjödén, P.O.; Lindquist, M.: Behavioral effects of neonatal thyroid hormones and differential postweaning rearing in rats. *Developmental Psychobiology*, 11(4) (1978) 371-383

- Sjödén, P.O.; Söderberg, U.: Effects of neonatal thyroxine stimulation on adult open-field behavior and thyroid activity in rats. *Physiological Psychology*, 4(1) (1976a) 50-56
- Sjödén, P.O.; Söderberg, U.: Effects of neonatal thyroid hormone stimulation and differential preweaning rearing on open-field behavior in adult rats. *Developmental Psychobiology*, 9(5) (1976b) 413-424
- Smythies, J.R.: *Brain mechanisms and behavior*. Academic Press. New York (1966)
- Sobrian, S.K.; Pappas, B.A.; Edson, N.; Rastogi, R.; Singhal, R.L.: Alterations in behavioral ontogeny following neonatal radiothyroidectomy in the rat. *Research Communications in Psychology, Psychiatry and Behavior*, 1 (3) 1976 419-434
- Sokolov, E.N.: Neuronal models and the orienting reflex. En Brazier, M.A.B. (Ed): *The Central Nervous System and behavior*. Macy Foundation. Nova York (1960)
- Solomon, P.R.: Temporal versus spatial information processing theories of the hippocampal function. *Psychological Bulletin*, 86 (1979) 1272-1279
- Steward, O.: Polyribosomes at the base of dendritic spines of central nervous system neurons. Their possible role in synapse construction and modification. *Cold. Spring. Harb. Symp. quant. Biol.*, 48 (1983) 745-759
- Strömbom, U.; Svensson, T.H.; Jackson, D.M.; Engström, G.: Hyperthyroidism: Specifically increased response to central NA-(alpha)receptor stimulation and generally increased monoamine turnover in brain. *Journal of Neural Transmission.*, 41 (1977) 73-92
- Sutherland, N.S.; Machintosh, N.J.: *Mechanisms of animal discrimination learning*. Academic Press. Nova York (1971)

Bibliografia

- Szentagothai, J.; Hamori, J.; Tombol, T.: Degeneration and electron microscope analysis of the synaptic glomerulus in the lateral geniculate body. *Experimental Brain Research*, 2 (1966) 283-301
- Tamasy, V.; Meisami, E.; Du, J-Z.; Timiras, P.S.: Exploratory behavior, learning ability, and thyroid hormonal responses to stress in female rats rehabilitating from postnatal hypothyroidism. *Developmental Psychobiology*, 19 (1986a) 537-553
- Tamasy, V.; Meisami, E.; Vallergera, A.; Timiras, P.S.: Rehabilitation from neonatal hypothyroidism: Spontaneous motor activity, exploratory behavior, avoidance learning and response of pituitary-thyroid axis to stress in male rats. *Psychoneuroendocrinology*, 11 (1986b) 91-103
- Timiras, P.S.: Thyroid hormones and the developing brain. In E. Meisami and P.S. Timiras (Eds.): *Handbook of human growth and developmental biology*, Vol I, part C, CRC press, Florida, (1988) 59-82
- Timiras, P.S.; Nzekwe, E.U.: Thyroid hormones and nervous system development. *Biology of Neonate*, 55 (1989) 376-385
- Thompson, R.; Kenshalo, D.R.: *Journal of Comparative Physiology and Psychology*, 47 (1954) 36 . Citat per Eayrs (1966)
- Todd, G.C.: Induction and reversibility of thyroid proliferative changes in rats given and antithyroid compound. *Veterinary Pathology*, 23 (1986) 110-117
- Turner, D.A.; Schwartzkroin, P.A.: Electrical characteristics of dendrites and dendritic spines in intracellularly stained CA3 and dentate hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*, 3 (1983) 2381-2394

- Vaccari, A. Effects of dysthyroidism on central monoaminergic neurotransmission. In M. Schlumpf and W. Lichtensteiger (Eds.): *Drugs and hormones in brain development*, Karger, Basel, 1982
- Vaccari, A.; Biassoni, R.; Timiras, P.S.: Selective effects of neonatal hypothyroidism on monoamine oxidase activities in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 40 (1983) 1019-1025
- Vaccari, A.; Biassoni, R.; Timiras, P.S.: Effects of neonatal dysthyroidism on serotonin type 1 and type 2 receptors in rat brain. *European Journal of Pharmacology*, 95 (1983) 53-63
- Vaccari, A.; Rossetti, Z.L.; de Montis, G.; Stefanini, E.; Martino, E.; Gessa, G.L.: Neonatal hypothyroidism induces striatal dopaminergic dysfunctions. *Neuroscience*, 35 (1990) 699-706
- Vaccari, A.; Timiras, P.S.: Alterations in brain dopaminergic receptors in developing hypo- and hyperthyroid rats. *Neurochemistry International*, 3 (1981) 149-153
- Valverde, F.: Apical dendritic spines of the visual cortex and light deprivation in the mouse. *Experimental Brain Research*, 3 (1967) 337-352
- Valverde, F.; Ruiz-Marcos, A.: Dendritic spines in the visual cortex of the mouse: introduction to a mathematical model. *Experimental Brain Research*, 8 (1969) 269-283
- van Doorn, J.; Roelfsema, F.; van der Heide, D.: The effect of propylthiouracil and methimazole on the peripheral conversion of thyroxine to 3,5,3-triiodothyronine in athyreotic thyroxine-maintained rats. *Acta Endocrinologica.*, 103 (1983) 509-520

Bibliografia

- Vinogradova, O.S.: Functional organization of the limbic system in the process of registration of information: facts and hypotheses. En Isaacson R.L.; Pribram, K.H. (Eds) *The hippocampus*, New York (1975) Plenum Press
- Walker, D.W.; Hunter, B.E.; Abraham, W.C.: Neuroanatomical and functional deficits subsequent to chronic ethanol administration. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 5 (1981) 267-282
- Walters, S.N.; Morell, P.: Effects of altered thyroid states on myelinogenesis. *Journal of Neurochemistry*, 36(5) (1981) 1792-1801
- Westlind-Danielsson, A.; Gould, E.; McEwen, B.S.: Thyroid hormone causes sexually distinct neurochemical and morphological alterations in rat septal-diagonal band neurons. *Journal of Neurochemistry*, 56(1) (1991) 119-128
- Westrum, L.E.; Blackstad, T.M. : An electron microscope study of the stratum radiatum of the rat hippocampus (regio superior, CA1) with particular emphasis on synaptology. *Journal of Comparative Neurology*, 119 (1962) 281-292
- Westrum, L.E.; White, L.E.; Ward, A.A.: Morphology of the experimental epileptic focus. *Journal of Neurosurgery*, 21 (1964) 1033-1046
- Witter, M.P.: Organization of the entorhinal-hippocampal system: A review of current anatomical data. *Hippocampus*, 3 (1993) 33-44
- Witter, M.P.; Groenewegen, H.J.; Lopes Da Silva, F.H.; Lohman, A.H.M.: Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Progress in Neurobiology*, 33 (1989) 161-253
- Woolley, C.S.; Gould, E.; Frankfurt, M.; McEwen, B.S.: Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 10(12) (1990) 4035-4039

Zador, A.; Koch, C.; Brown, T.H.: Biophysical model of hebbian synapse. *Proceedings of Natural Academia of Sciences of the United States of America*, 87 (1990) 6718-6722



Servei de Biblioteques

Reg. 1500489957

Sig. J.V.A.B./3226